

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**“EFECTO DE LA APLICACIÓN INTRAMUSCULAR
DEL PLASMA SEMINAL SOBRE LA TASA DE
SOBREVIVENCIA EMBRIONARIA EN ALPACAS
POST MONTA”**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciada en médico veterinario

AUTOR

Jesús Enrique Turín Vilca

Lima – Perú

2014

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso, quien siempre me guía y protege en los caminos de la vida

A mis padres Celia y Luis, y a mis hermanos Luis y Rafael, quienes siempre apoyan todos mis proyectos y confían en todas mis capacidades, Gracias por todo el esfuerzo y todos los sacrificios que hicieron para permitirme llegar hasta aquí. Dios nos proteja y nos mantenga siempre unidos.

A la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos mi alma mater, mi segundo hogar y a todos mis docentes, gracias por todo el esfuerzo que hacen para que ayudarnos a conseguir nuestras metas profesionales.

A todos mis amigos de ayer, hoy y siempre, con quienes comparto tantas alegrías y quienes siempre me apoyan en los momentos difíciles. Le doy gracias a Dios por haberlos hecho llegar a mi vida.

A los productores alpaqueros de todo el Perú, gente noble y valiente que día a día pese a las adversidades hace todo lo posible por salir adelante.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Wilfredo Huanca, maestro, mentor, guía y gran amigo, el gran responsable de despertar en mí, el interés por la reproducción animal y la investigación científica. Gracias por su amistad y por todo el apoyo que siempre me brinda. Mi agradecimiento también a la Dra. Aida Cordero y al Dr. Antonio Ampuero por su amistad y motivación constante.

Al Dr. Teodosio Huanca, y a todo el personal del CIP Quimsachata del INIA, Puno, en especial a los Doctores Rómulo Sapaná, Rubén Mamani Cato, Oscar Cárdenas y Mario Lino Gonzales, por todas sus enseñanzas y todo el apoyo brindado para la realización de la presente investigación.

A mis compañeros y amigos de la FMV – UNMSM: Andrea, Pato, Ana María, Cecibel, Cynthia, Juan, Josías, Alonso, José, Diego, Jesús y Álvaro, a mis amigos de la UPCH: Diana, Vanesa, Mauricio y Enver y al gran Tito de Tacna, ya que sin su esfuerzo y colaboración, hubiese sido imposible realizar el presente trabajo; y a todos los chicos de las diferentes universidades del Perú y del extranjero a quienes tuve la suerte de conocer durante nuestras prácticas en el CIP Quimsachata del INIA-PUNO.

A la Dra. Ninoska Madrid Bury de la Universidad de Zulia de Venezuela, gran maestra y amiga, quien me enseñó tanto en tan poco tiempo y de quien espero seguir aprendiendo.

A los chicos del Repro-Team del Laboratorio de Biotecnología Reproductiva de la FMV – UNMSM, Nathie, Martita, Silvia, Camilo, Marco, Tito y Fahrid, ¡Gracias por su amistad y cariño!

Al proyecto: “Mejora de la calidad del embrión en alpacas: Efecto del estadio de desarrollo folicular, ambiente materno, esquemas de inducción de la ovulación y manejo”, Contrato N° 405-PNICP-PIAP-2014, por el financiamiento del presente trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
 I. INTRODUCCION-----	 1
 II. REVISION BIBLIOGRAFICA-----	 3
2.1 Realidad de los Camélidos Sudamericanos en el Perú-----	3
2.2 Ovulación espontánea y ovulación inducida-----	4
2.3 Anatomía del aparato reproductor de la hembra-----	6
2.4 Fisiología reproductiva de la alpaca hembra-----	7
2.4.1 Pubertad.....	7
2.4.2 Comportamiento sexual de la hembra.....	8
2.4.3 Estacionalidad reproductiva.....	8
2.4.4 Dinámica folicular en los Camélidos Sudamericanos.....	9
2.4.5 Ovulación.....	11
2.4.6 Cuerpo lúteo.....	12
2.4.7 Reconocimiento maternal de la preñez y gestación.....	14
2.3 Anatomía del aparato reproductor del macho-----	16
2.6 Fisiología reproductiva de la alpaca macho-----	17
2.6.1 Pubertad.....	17
2.6.2 Espermatogénesis.....	18
2.6.5 Características del semen de alpaca.....	18
2.7 Plasma seminal e inducción de ovulación.....	20
 III. MATERIALES Y METODOS-----	 24
3.1 Lugar de estudio.....	24
3.2 Tamaño de la muestra.....	24
3.3 Unidades experimentales.....	25
3.4 Obtención del plasma seminal.....	25
3.5 Diseño experimental.....	26
3.6 Análisis estadístico.....	28
 IV. RESULTADOS-----	 29
 V. DISCUSIÓN-----	 33
 VI. CONCLUSIONES-----	 36
 VII. LITERATURA CITADA-----	 37
 VIII. APENDICE-----	 47

RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objetivo evaluar el efecto de la aplicación por vía intramuscular (IM) de plasma seminal sobre la supervivencia embrionaria en alpacas luego que fueron servidas por monta natural. El estudio fue realizado durante los meses de enero a marzo del 2013, en el departamento de Puno. El plasma seminal se obtuvo de muestras de semen de alpaca, colectadas y diluidas en proporción 1:1 en buffer fosfato salino (PBS), para luego ser centrifugadas y conservadas en congelación hasta su posterior uso. Alpacas hembras vacías ($n = 117$), fueron seleccionadas de acuerdo a la presencia de un folículo dominante \geq de 7 mm detectado por ecografía tras rectal; las cuales fueron servidas por monta natural y distribuidas aleatoriamente en 3 grupos de comparación: $T_1(n=40)$ a las cuales se les administró 1 ml de plasma seminal diluido en PBS, vía IM; $T_2(n=39)$ a las que se les administró 1 ml de un análogo de GnRH (0.0042 mg de acetato de buserelina), vía IM y $T_3(n=38)$ sin administración de producto alguno. Posteriormente se evaluaron mediante ecografía tras rectal el día 25 post monta para determinar la gestación y el día 62 para determinar la tasa de supervivencia embrionaria. Todos los animales en estudio fueron alimentados con pastos naturales y recibieron las mismas condiciones de manejo. Los resultados obtenidos muestran una tasa de concepción al día 25 post monta del 67.5%, 51.3% y 55.3% y una tasa de supervivencia embrionaria al día 62 del 92.6%, 80% y 85.7% para los grupos T_1 , T_2 y T_3 respectivamente. Los resultados obtenidos sugieren que la aplicación intramuscular de plasma seminal inmediatamente después de la monta determina un incremento porcentual de la supervivencia embrionaria en comparación a la aplicación de GnRH o la monta natural, sin embargo dicha diferencia no es estadísticamente significativa ($P<0.05$).

Palabras clave: Alpacas, plasma seminal, OIF, cuerpo lúteo, supervivencia embrionaria.

ABSTRACT

This study was aimed to evaluate the effect of intramuscular application (IM) of seminal plasma on Alpaca's embryo survival, after they were bred by natural mating. The study was realized during the months of January to March 2013, in Puno city. Seminal plasma was obtained from alpaca semen samples, which were collected and diluted 1:1 in phosphate buffered saline (PBS), then were centrifuged and kept frozen for storage until use. Non pregnant alpacas ($n = 117$) were selected, according to the presence of a dominant follicle ≥ 7 mm detected by tras rectal ultrasonography; which were bred by natural mating and then were assigned randomly into one of 3 groups of comparison: T_1 ($n = 40$) which were given 1 ml of seminal plasma diluted in PBS, IM, T_2 ($n = 39$) which were given 1 ml of GnRH analogue (0.0042 mg buserelin), IM and T_3 ($n = 38$) without administration of any product. Subsequently they were evaluated by transrectal ultrasonography on day 25 post-bred to determine pregnancy and day 62 for determining the embryo's survival rate. All the study's animals were fed with natural pasture and received the same rearing conditions. The results showed 67.5%, 51.3% and 55.3% of conception rate on day 25 post-bred and 92.6%, 80% and 85.7% of embryo's survival rate on day 62 for groups T_1 , T_2 and T_3 respectively. The results suggest that intramuscular application of seminal plasma immediately after natural mating determines a percentage increase of embryo survival compared to the application of GnRH or natural mating, however this difference is not statistically significant ($P < 0.05$).

Keywords: Alpacas, seminal plasma, OIF, corpus luteum, embryo survival.

LISTA DE CUADROS

.....	Pag.
Cuadro 1 Componentes bioquímicos del plasma seminal de llamas y alpacas.....	20
Cuadro 2 Distribución de Grupos experimentales	27
Cuadro 3 Tamaño del folículo dominante al inicio de la aplicación de los tratamientos	29
Cuadro 4 Tiempos de cópula durante la monta contralada al inicio del experimento	30
Cuadro 5 Tasa de concepción 25 días después de iniciados los tratamientos	30
Cuadro 6 Tasa de supervivencia embrionaria a los 62 días de iniciados los tratamientos	31

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
.....	
Fig 1 Diseño experimental	28
Fig 2 Comparación del número de hembras preñadas entre el día 27 y el día 62 post cópula en cada uno de los grupos de evaluación.....	31
Fig 3 Supervivencia embrionaria calculada al día 62 post servicio para cada grupo de evaluación.....	32

I. INTRODUCCION

La crianza de los camélidos sudamericanos constituye una actividad económica importante para el sostenimiento del poblador alto andino. Desde el tiempo del Incanato estas especies han sido utilizadas para la producción de carne y fibra, y también como medio de transporte de carga (Burton et al., 1969). El hábitat natural de estos animales son los ecosistemas alto andinos ubicados por encima de los 3800 msnm, donde los pastos son de mala calidad debido a las difíciles condiciones medioambientales; pese a ello, los camélidos sudamericanos han sido capaces de adaptarse para producir fibra de gran calidad y carne de alto contenido proteico (Fernández Baca, 1991).

Pese a la rusticidad y resistencia de estas especies, una limitante para su explotación es su baja eficiencia reproductiva; las alpacas por ejemplo, tienen una baja tasa de gestación, explicable tal vez por su alta tasa de mortalidad embrionaria que puede llegar hasta el 50% durante los primeros 35 días de gestación (Fernández Baca et al., 1970a). La secreción de progesterona por el cuerpo lúteo, es un factor determinante para el mantenimiento de una adecuada gestación (Sumar, 1988), ya que permite el mantenimiento de la quiescencia uterina y actúa como facilitador del desarrollo de un ambiente uterino óptimo para que se produzca el reconocimiento maternal de la preñez.

Los camélidos sudamericanos de acuerdo a la clasificación planteada por Conaway (1971), son considerados especies de ovulación inducida, ya que en estas especies, para que se produzca la liberación del ovocito es necesaria una interacción neuroendocrina, la cual es producto de la estimulación durante la cópula (San Martín et al., 1968). Sin embargo se han reportado la existencia de ovulaciones espontáneas en un rango del 3.5 %, en el caso de Camélidos Sudamericanos, cuando los folículos preovulatorios tienen un diámetro mayor a 6mm, porcentaje que se sugiere va en aumento (Bravo y Sumar, 1989). Esta situación se produce cuando hay contacto físico entre hembras y machos sin penetración y como producto de estímulos sensoriales y así también por

efecto de la manipulación del tracto reproductivo de la hembra durante las ecografías tras rectales (Ratto et al., 1997; Sumar, 1994).

En los últimos años, diversos estudios han demostrado la presencia de un factor en el plasma seminal del macho que es determinante para que se produzca la ovulación en los camélidos. Chen et al. (1985), propuso la existencia de un factor inductor de ovulación en el plasma seminal de los camellos bactrianos, al encontrar ovulación en el 87 % de hembras a las que previamente les había administrado plasma seminal por vía intramuscular. Basados en estos hallazgos y en la relación filogénica entre especies, un estudio realizado por Ríos (1968), sugirió la presencia de un posible agente inductor de ovulación con un efecto fisiológico muy importante en la reproducción de los Camélidos Sudamericanos, reportando la ovulación en alpacas luego de la aplicación intravaginal de plasma seminal de machos vasectomizados; estudios posteriores demostraron el potente efecto luteotrópico de este factor, lo que se evidencia con el incremento y la permanencia de las concentraciones circulantes de LH y el cambio rápido en la vascularización del folículo pre ovulatorio y el cuerpo lúteo en desarrollo (Adams et al., 2005; Ulloa-Leal et al., 2014).

Estudios realizados sobre los cambios hormonales en camélidos han demostrado que el máximo desarrollo del cuerpo lúteo se alcanza el día 8 post ovulación, lo que coincide con un aumento en los niveles séricos del estradiol 17β y la caída temporal de progesterona entre los días 9 y 11 post ovulación para luego volver a incrementarse en hembras preñadas o continuar cayendo en animales vacíos (Adams et al., 1990, Aba et al., 1995). Estos cambios en los perfiles hormonales sugieren que posiblemente durante este lapso de días se produce el evento del reconocimiento maternal de la preñez.

Leyva y García (1999), reportaron que la administración de GnRH el día 5 post copula incrementa la tasa de supervivencia embrionaria, debido posiblemente al estímulo que esta hormona produce en la hipófisis para la liberación de LH, lo que produciría un efecto luteotrópico adicional sobre el cuerpo lúteo, con una mayor secreción de progesterona.

Dado que el factor inductor de ovulación tiene un marcado efecto potenciador de la LH, el presente estudio tiene por objetivo evaluar el efecto de la aplicación intramuscular de plasma seminal luego de la monta, sobre la tasa de supervivencia embrionaria en las alpacas hembras, a los 62 días post cópula.

II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

2.1 Realidad de los Camélidos Sudamericanos en el Perú:

Actualmente el Perú posee una población de 3685 516 alpacas, 1 204 277 llamas y 198 074 vicuñas, siendo el país que posee la mayor población de alpacas en el mundo (80% de la población mundial) y el segundo de llamas después de Bolivia (MINAGRI, 2013).

La introducción tras la conquista del imperio incaico de especies domesticas provenientes de Europa como los ovinos y bovinos produjo el descuido y el desplazamiento de las especies nativas a las zonas más inhóspitas de la región andina, pese a ello los Camélidos Sudamericanos lograron sobrevivir gracias a su gran capacidad de adaptación, siendo capaces de transformar los pobres pastos que consumen en carne de gran calidad y fibra de gran finura, razón por la cual su crianza se ha convertido en la principal actividad productiva de los pobladores alto andinos, ya que para ellos la práctica de la agricultura es casi imposible por las dificultades ambientales (FAO, 2005).

Pese a que el Perú posee la mayor población de camélidos, la repercusión económica que debería representar la elaboración de productos a partir de estas especies es poco significativa, constituyendo tan solo el 1,35 % de las exportaciones totales del Perú, lo que representa únicamente el 5% de las exportaciones no tradicionales. Su contribución al Producto Bruto Interno (PBI) manufacturero ha sido cifrada entre el 2% y el 2,5% en los últimos 10 años (CITE Alpaca, 2006). Las exportaciones de fibra de alpaca suponen para el país unos ingresos anuales de divisas de 1 200 000 dólares USA (IPAC, 2005).

Los trabajos de investigación y el desarrollo de técnicas de crianza se vienen desarrollando desde los años 60 debido el interés de las grandes haciendas por la producción de estas especies.

Actualmente los sistemas de crianza siguen el esquema tradicional y solo un 10% de los productores adoptan criterios técnicos de crianza; coyuntura que definitivamente dificulta la mejora genética de estas especies.

La salida en el año 1984 de una cantidad importante de ejemplares de alta calidad hacia USA, Australia y Nueva Zelanda, determinó que en la actualidad un 70% de la población de alpacas posea fibra de elevado grosor, quedando pocos reproductores de excelente calidad los cuales por su costo son prácticamente inalcanzables para los productores artesanales. Esta realidad nos obliga a buscar alternativas tecnológicas que favorezcan la reproducción rápida de los pocos ejemplares de alta calidad genética que aun hay en el país (Sumar, 2007).

2.2 Ovulación espontánea y ovulación inducida

San Martin M. *et al.* (1968), propusieron que en el caso de las alpacas, de manera similar a los camellos del viejo mundo, el proceso de ovulación se produce como respuesta a estímulos producidos durante el coito.

Posteriormente, Conaway (1971), clasificó a las especies de acuerdo a como se produce en ellas el proceso de la ovulación, separándolas en ovuladores espontáneos y ovuladores inducidos según si la liberación del ovulo se produce por mero control endocrino de la hembra o si es necesario además un estímulo externo para su realización.

Muchas teorías sugieren que las especies de ovulación espontánea evolucionaron de las de ovulación inducida (Conaway, 1971; Bakker *et al.*, 2000), otras hipótesis sugieren que la ovulación inducida evolucionó en ciertas especies como una forma de asegurar la conservación a través de un estado de receptividad constante que permita la máxima posibilidad de concebir cuando se está sometido a severas condiciones medioambientales (Lariviere *et al.*, 2003). Este podría ser el caso de los camélidos, quienes se originaron en América del Norte, pero se vieron obligados a cruzar el Estrecho de Bering durante la última glaciación (Wheeler, 1995); dando origen a los camélidos del viejo mundo de hoy (camellos, dromedarios y bactrianos) y los camélidos sudamericanos (llamas, alpacas, guanacos y vicuñas), los cuales aún hoy habitan en ambientes hostiles como las regiones alto andinas y los desiertos.

Como antes se había mencionado los ovuladores espontáneos son aquellas especies que ovulan a intervalos regulares como respuesta a un estímulo endógeno: la alta concentración de estrógeno

liberado por el folículos en el ovario; e incluyen a la mayoría de especies domesticas como bovinos, equinos y caninos. Los bovinos por ejemplo tienen un ciclo estral que puede durar de 17 a 25 días y se divide en 2 fases: folicular y luteal. La fase folicular que incluye el proestro y el estro, se extiende desde la regresión del cuerpo lúteo hasta la ovulación del folículo dominante. Durante esta fase las principales estructuras presentes en el ovario son los folículos en crecimiento y la hormona dominante es el estradiol. La fase luteal incluye el metaestro y el diestro, comprende desde la ovulación hasta la regresión del cuerpo lúteo; la estructura principal presente en el ovario en esta fase es el cuerpo lúteo y la hormona progesterona es la dominante (Senger, 2005, Adams, 2007).

Las especies de ovulación inducida, a diferencia de las anteriores, incluye a aquellas en las cuales para que ocurra la ovulación se necesita un estímulo exógeno provocado durante el coito. Entre estas especies podemos mencionar a los conejos, hurones, gatos, camélidos sudamericanos y koalas. En cuanto al estímulo inductor se sabe que algunas especies solo necesitan una penetración y un solo eyaculado como en el caso de los conejos y los camélidos, pero en el caso de los gatos y los ratones de campo necesitan varias penetraciones y eyaculados para ovular (Tanco, 2011).

En ambos tipos de ovuladores, el crecimiento folicular se presenta en ondas, en el caso de las vacas puede presentar de 2 a 3 ondas de crecimiento folicular (Adams, 2007). En todas estas especies, la fase folicular se caracteriza por el reclutamiento de varios folículos de los cuales solo uno se convierte en el dominante e inhibe a los folículos restantes y crece, este en el caso de los ovuladores espontáneos llegará a ovular, no siendo así en el caso de los ovuladores inducidos, en los cuales de no haber el estímulo de la monta no se producirá la ovulación y el folículo dominante regresionará (San Martín *et al.*, 1968; Fernández Baca., 1993; Sumar, 1996; Adams, 2005).

En el caso de los ovuladores espontáneos como la vaca, una vez que la luteolisis se ha producido y el folículo dominante ha alcanzado un tamaño preovulatorio (> 8 mm), las vacas presentan el estro o franco celo que dura un promedio de 12 a 18 horas, durante este tiempo, las vacas presentan una conducta típica: son montadas por los toros u otras vacas; junto a otras vacas se lamen y olfatean los genitales y hay un notable aumento del desplazamiento ambulatorio de estos animales dentro de los corrales (Hafez, 2000). En general, los primeros signos del estro en la vaca se asocian con el inicio del pico preovulatorio de LH. La ovulación ocurre 24 a 30 horas después del pico de LH; posteriormente se inicia el desarrollo del cuerpo lúteo el cual produce la progesterona y es esta la que determina un cambio de actitud de la hembra, lo que se evidencia con el rechazo del macho. El cuerpo lúteo en la vaca puede ser detectado inmediatamente por ecografía y alcanza su tamaño máximo 9 a 10 después de la ovulación (Singh *et al.*, 1997; Kastelic *et al.*, 1990). La luteolisis en

los bovinos es un mecanismo regulado por la oxitocina y la progesterona secretada por el propio cuerpo lúteo y por la PGF2 α producida por el útero. Se cree que la exposición a altos niveles de progesterona, induce el desarrollo de los receptores de oxitocina en el endometrio y la producción de prostaglandinas las cuales al llegar al cuerpo lúteo a través del sistema porta útero-ovárico, causa su regresión (Hafez, 2000).

En el caso de los Camélidos Sudamericanos la ovulación se produce si hay un folículo dominante de 7 mm o más grande al momento del coito, pero si los folículos son mas pequeños de 6 mm o se encuentran en fase de regresión, la ovulación no se produce (Vaughan, 2004; Adams *et al.*, 1990). Durante la fase luteal las hembras no son receptivas al macho, pero si no hay preñez se produce la luteolisis. El cuerpo lúteo se puede detectar por ecografía 3 días después de la ovulación y alcanza su máximo diámetro 8 días después de la ovulación. En caso de preñez el cuerpo lúteo se mantiene a lo largo de toda la gestación la cual dura alrededor de 325 a 361 días en las alpacas y 331 a 361 días en llamas (San Martín *et al.*, 1968; Sumar, 1988, 1996).

2.3 Anatomía del aparato reproductor de la alpaca hembra

Los ovarios son órganos pares localizados en la cavidad abdominal, están fijados por el mesovario y envueltos por la bolsa ovárica (Bravo *et al.*, 2000). El tamaño, la forma y el peso de los ovarios varía con la edad, en hembras pre púberes, la superficie ovárica es lisa; en cambio, en hembras en estado reproductivo, es irregular debido a la presencia de folículos y cuerpos lúteos en varios estadios de desarrollo (Elwishy, 1992). Los ovarios miden en promedio 10 mm de largo, 8 mm de ancho y pesan entre 1,9 y 2,4 g (Sato y Montoya, 1990; Sumar, 1985).

Los oviductos son tubos delgados y sinuosos que unen el ovario con el útero y miden de 10 a 12 cm de longitud y están suspendidos por el mesosalpinx. En la unión con el útero, el diámetro es de 2 a 3 mm; en cambio, en su extremidad próxima al ovario, se ensancha a manera de embudo, formando una verdadera bolsa que envuelve el ovario. Esta estructura sirve para recibir los óvulos liberados del ovario. Esta porción ovárica del oviducto tiene mayor importancia en la fertilidad, ya que allí se efectúa la fecundación.

El útero o matriz esta conformado por el cuerpo del útero y dos cuernos que se bifurcan, donde desembocan los oviductos. Externamente, desde el punto de bifurcación a la extremidad distal, el cuerno izquierdo mide 7,9 cm y el derecho 7,4 cm. Internamente, existe una pared medial o velo

uterino de aproximadamente 2 cm de largo, que divide ambos cuernos. El cuerpo uterino es pequeño, mide 1,5 cm de largo por 2 cm de ancho.

El cuello del útero o cerviz presenta tres a cuatro pliegues anulares. El canal cervical es sinuoso y mide de 2 cm a 3 cm de largo (Sato y Montoya, 1990).

La longitud de la vagina varía entre 13 y 15 cm y su diámetro es de 3,5 a 5 cm aproximadamente y se caracteriza por ser una estructura extensible que tiene una mucosa que forma numerosos pliegues (Sumar, 1985; Fowler, 1989). El himen, o sus restos, marcan la separación entre la vagina y la vulva. La longitud de la vulva es de unos 3 cm. y el clítoris es muy pequeño (Bravo *et al.*, 2000).

2.4 Fisiología reproductiva de la alpaca hembra

2.4.1 Pubertad

Podemos considerar que un animal alcanza la pubertad cuando es capaz de liberar gametos y mostrar comportamiento sexual (Hafez, 2000). Las alpacas dan indicios de receptividad sexual desde los 12 a 14 meses de edad, sin embargo, se ha determinado que la actividad ovárica en esta especie se inicia mucho antes, ya que se observó en los ovarios la presencia de folículos con un diámetro superior a los 5 mm (Novoa *et al.*, 1972; Sumar, 1985). En todas las especies el inicio de la pubertad se ve condicionada por factores ambientales siendo el más importante la condición corporal del animal, en ese sentido, se asume que para iniciar la pubertad, el animal debe alcanzar el 60% del peso corporal de un adulto, lo que en las alpacas supone que deben llegar a los 33 a 36 kg de peso vivo (Sumar, 1985; Smith, 1985).

En óptimas condiciones nutricionales las alpacas hembras pueden tener su primera gestación a los 12 meses (Fernández-Baca, 1972; Novoa *et al.*, 1972). Sin embargo, dadas las condiciones ambientales y la características de las pasturas de los andes peruanos es habitual que la primera gestación recién se inicie a los 2 años de edad. Si tomamos en cuenta que la tasa de natalidad media en el caso de las alpacas es aproximadamente del 50%; solo la mitad de los animales empadrados a los 2 años producirá su primera cría a los 3 años, mientras que el resto solo lo hará hasta los 4 años de edad (Fernández-Baca, 1974).

2.4.2 Comportamiento sexual de la hembra

Los Camélidos Sudamericanos son ovuladores inducidos en los que no se puede afirmar que presenten ciclos estrales definidos, sin embargo, presentan periodos de receptividad sexual los que pueden durar hasta 36 días si no hay presencia de machos, con interrupciones que no sobrepasan las 48 horas (San Martín *et al.*, 1968). En estas especies la receptividad de las hembras no siempre esta asociada a la presencia de un folículo dominante (Sumar *et al.*, 1993; Bravo *et al.*, 1994).

El cortejo en los camélidos sudamericanos se inicia cuando un macho sexualmente activo entra en contacto con una hembra y puede tener una duración de unos pocos segundos hasta 10 minutos dependiendo de la libido y capacidad del macho (England *et al.*, 1971).

Cuando la hembra esta receptiva acepta la monta del macho de pie para luego adoptar una posición decúbito esternal y aceptar la cópula, en algunas ocasiones es posible que las hembras se coloquen en decúbito lateral (Sumar, 1997; Adams, 1997). Es común observar que otras hembras receptivas se acerquen a las parejas copulando para olfatear al macho y también asuman la posición de decúbito esternal (Fernández-Baca *et al.*, 1970a; Novoa, 1970); algunas hembras incluso montan a otras que están echadas, ejecutando movimientos pélvicos similares a los machos (San Martín *et al.*, 1968; Fernández Baca *et al.*, 1970a), pero dicho estímulo no es suficiente para inducir la ovulación (Fernández-Baca *et al.*, 1970a). Cuando una hembra no esta receptiva trata de escapar del acoso del macho y se defiende pateando y escupiendo (Fernández-Baca *et al.*, 1968).

Durante la cópula el macho se coloca sobre la hembra y sitúa sus metatarsos lateralmente a los de la hembra (Novoa, 1970) y busca con su pene hasta ubicar la vulva y lo introduce en la vagina, atraviesa la cervix, hasta llegar hasta los cuernos uterinos donde debido a las penetraciones alternadas sucesivas provoca en el endometrio inflamación, edema e hiperemia (Bravo *et al.*, 1996; Velásquez *et al.*, 1999). La duración media de la cópula suele ser de 20 a 30 minutos, aunque el rango es muy amplio variando entre 5 a 65 min (England *et al.*, 1971; Sumar, 1985; Fernández Baca, 1993).

2.4.3 Estacionalidad reproductiva

Los camélidos sudamericanos son capaces de reproducirse durante todo el año, la actividad ovárica de las hembras es continúa durante todo el año, si alterarse la cantidad de folículos pre ovulatorios presentes en el ovario durante todas las estaciones (Bravo y Sumar, 1989), la época

reproductiva comprendida entre los meses de diciembre a marzo es un periodo determinado mas por el manejo y la disponibilidad de alimento, que por la influencia estacional sobre la fisiología reproductiva de las hembras, ya que esa época del año coincide con las condiciones ambientales más favorables, al ser los meses más templados y lluviosos y durante los cuales existe una mayor disponibilidad de pastos (Novoa, 1991).

Definitivamente la conducta sexual de los Camélidos Sudamericanos está determinada por el manejo y los criterios de crianza, así por ejemplo en las comunidades campesinas los machos y las hembras están agrupadas durante todo el año y las hembras paren únicamente entre los meses de enero a abril. La asociación continua de hembras y machos inhibe la actividad sexual de los machos e inclusive puede provocar que desaparezca por completo (Fernández Baca, 1972). Por el contrario, cuando existe completa separación de machos y hembras y solamente se permite la cópula de forma esporádica, ambos sexos se mantienen sexualmente activos durante todo el año (Sumar, 1985) y los partos pueden producirse en cualquier época del mismo (San Martín *et al.*, 1968; Huanaco *et al.*, 1986; Laguna, 1986).

2.4.4 Dinámica folicular en los Camélidos Sudamericanos

Al igual que en los demás especies, los Camélidos Sudamericanos muestran oleadas de crecimiento folicular de manera continua, pero difieren en el hecho que en ausencia de copula no se produce la ovulación ni la formación de un cuerpo lúteo, en su lugar al final de la oleada de crecimiento se produce la atresia del folículo dominante (Sumar, 2000).

El folículo dominante tiene tres fases o estadios de desarrollo: fase de crecimiento, fase de madurez, momento en el que se alcanza el diámetro de folículo preovulatorio (7–12 mm), y la fase de regresión, siendo la duración media de cada una de ellas de 4 días en la alpaca (Bravo y Sumar, 1989). Los datos obtenidos en las llamas son muy similares: fase de crecimiento 4,8 días, fase de madurez 5,0 días y fase de regresión 4 días (Bravo *et al.*, 1990; Novoa, 1991). La primera fase se caracteriza por el crecimiento de un grupo de folículos antrales de 2 a 3 mm hasta alcanzar un diámetro de 4 a 5 mm. En las llamas y las alpacas no se ha comprobado que el inicio de la oleada de crecimiento folicular sea determinado por la elevación de los niveles de FSH, tal y como se produce en otras especies como los bovinos (Adams, 1999). Durante la fase de madurez el folículo dominante continúa creciendo, mientras que el resto de folículos en ambos ovarios sufre atresia (Adams *et al.*, 1989), este proceso se produce probablemente, a través de la secreción de inhibina

(Tibary, 2001b; Tibary y Memon, 1999). Con respecto a la fase de regresión, está se produce debido a que el folículo dominante controla su propia duración (Adams, 2001); por lo tanto si no hay ovulación se atresia (Bravo *et al.*, 1990). Al cabo de 2 a 3 días del inicio de la atresia del folículo dominante se inicia una nueva oleada de crecimiento folicular (Vaughan, 2001a) y en ocasiones se puede producir la coexistencia de dos folículos dominantes, uno en crecimiento y otro en regresión (Adams y col, 1990).

Se ha determinado la existencia de una correlación positiva entre el tamaño del folículo dominante y las concentraciones plasmáticas de 17β -estradiol y urinarias de sulfato de estrona, tanto en alpacas, como en llamas. La mayor concentración de estradiol se alcanza cuando el folículo adquiere su diámetro máximo, en las alpacas a los 8 días del inicio de la oleada de crecimiento (Vaughan, 2001b) y en las llamas a los 10 a 13 días (Chaves *et al.*, 2002).

La presencia de un cuerpo lúteo en el ovario, sea de ciclo o de gestación, no afecta al número de folículos en crecimiento (Del Campo *et al.*, 1996a); además se observó que durante la lactación el intervalo entre oleadas de crecimiento folicular se reduce y también lo hace el diámetro máximo alcanzado por el folículo dominante, debido probablemente a los elevados niveles de prolactina (Adams *et al.*, 1990).

El desarrollo de la onda folicular en camélidos sudamericanos dura un promedio de 13.8 días; la fase de crecimiento dura aproximadamente 4.8 ± 1.5 días; la fase de maduración tiene una duración de 5 ± 1.6 días y la fase de regresión folicular dura 4.0 ± 1.1 días (Bravo *et al.*, 1990). Sin embargo en otros estudios, Adams *et al.* (1990) encontró un largo total de 20 a 25 días; y Aba *et al.* (2000) determinó un largo de onda en 22.6 ± 2.5 días; donde la fase de crecimiento duró 9.2 ± 2.8 días; la fase de maduración de 5.2 ± 1.4 días y la de regresión de 8.2 ± 2.2 días; diferencias determinadas probablemente por el estado de lactancia de los animales que emplearon para sus estudios. Los folículos muestran una tasa de crecimiento de 0.43 ± 0.02 mm / día, entre los días 0 y 10, por lo que la mayoría de los folículos alcanzó una medida de 6 ó 7 mm de diámetro a los 6 u 8 días (Vaughan *et al.*, 2004).

En algunos estudios se observó que los folículos dominantes se distribuyen de forma homogénea entre ambos ovarios (Bravo y Sumar, 1989), sin embargo, en otros se indica que el número de folículos presentes en el ovario izquierdo es ligeramente superior al del derecho (Del Campo *et al.*, 1996). No obstante, no siempre se produce alternancia entre ambos ovarios de una oleada a otra (Adams *et al.*, 1990)

En los camélidos se ha descrito la presencia de folículos quísticos (Bravo *et al.*, 1993; Sumar, 1983) y hemorrágicos (Adams *et al.*, 1991a; Tibary, 1997). Cuando los folículos anovulatorios alcanzan un elevado tamaño, su persistencia se prolonga, dando origen a folículos quísticos o hemorrágicos, se ha podido observar que los folículos quísticos, cuyo diámetro es superior a los 12 mm, pueden mantenerse entre 17 a 31 días (Bravo *et al.*, 1993), y que los folículos hemorrágicos, con un diámetro superior a los 13 mm, se mantienen en el ovario 25 días o más (Adams *et al.*, 1991a).

2.4.5 Ovulación

La ovulación es provocada en todas las especies por un pico preovulatorio de LH. En los ovuladores espontáneos en presencia de bajos niveles de progesterona, el estradiol producido por el folículo dominante produce un efecto estimulador sobre el eje hipotálamo-hipofisario, induciendo la secreción de pulsos de LH cada vez más frecuentes lo que desencadenará una serie de eventos que tendrán por resultado la liberación del ovocito proveniente del folículo dominante (Hafez, 2002). El estradiol y la inhibina secretados por el folículo dominante inhiben la producción de FSH en la hipófisis sin afectar la producción de LH, a su vez el folículo dominante se vuelve totalmente sensible a la acción de la LH y alcanza su tamaño preovulatorio. Cuando el estradiol alcanza su máximo nivel plasmático, el hipotálamo es estimulado a liberar GnRH en pulsos crecientes lo que a su vez incrementa paulatinamente la liberación pulsátil de LH hasta llegar a un nivel máximo conocido como “pico preovulatorio de LH”, el cual es el responsable de la secreción de PGE e Histamina, las que provocan el incremento de la permeabilidad vascular de los vasos de la teca interna y la edematización de esta zona. Luego del pico de LH, la teca interna produce progesterona la cual induce a producir colagenasa de acción local debilitando la túnica albugínea que rodea el ovario. El pico de LH estimula también la producción de PGF2 α en el ovario la cual produce la contracción de la musculatura lisa del ovario provocando la liberación de los lisosomas de las células de la granulosa deteriorando aun mas el tejido conectivo que envuelve la zona del ápex folicular. Todos estos mecanismos producirán la rotura de la pared del folículo y la consecuente liberación del ovocito (Richards, 2002).

En el caso de las especies de ovulación inducida los mecanismos que provocan la liberación del pico preovulatorio de LH no son del todo claras. Como en los ovuladores espontáneos la GnRH secretada por el hipotálamo controla los pulsos de LH. En un estudio realizado en llamas se

demostró que el primer incremento significativo de los niveles plasmáticos de LH se produce entre 15 a 40 minutos después del inicio del coito, como consecuencia de un reflejo neuroendocrino. Los estímulos neuronales que desencadenan dicho reflejo involucran la estimulación de la cervix durante la penetración, los sonidos emitidos por el macho y el contacto físico (Bravo, 1994; Fernández-Baca *et al.*, 1970a). El máximo pico de LH se presenta a las 2 ó 3 horas de la monta, retornando a niveles basales al cabo de 7 a 12 horas de la misma (Aba, 1998; Aba y Forsberg, 1995; Bravo *et al.*, 1990; 1992). Recientemente se ha determinado la presencia en el semen de un factor inductor de la ovulación de naturaleza proteica de una masa molecular de 14 KDa, y 12-23 AA, cuyo efecto es luteotrópico (Adams y Ratto, 2001; Chen *et al.*, 1985, Ratto *et al.* 2012).

La ovulación como respuesta a la cópula requiere como requisito indispensable que el folículo dominante tenga un diámetro mayor a los 6 mm y se encuentre en fase de crecimiento (Adams *et al.*, 1990). Se ha observado que cuando el diámetro folicular es menor o el folículo se encuentra en fase de regresión, la ovulación no se produce (Bravo *et al.*, 1991). La ovulación se produce con similar frecuencia en ambos ovarios (Bravo *et al.*, 1993; 1995; Fernández-Baca *et al.*, 1970a). A pesar de que la mayor parte de las gestaciones se producen en el cuerno izquierdo no se ha demostrado el hecho que si el ovocito proviene del ovario izquierdo determine mayor probabilidad de preñez (Vaughan *et al.*, 2003). Si bien se sabe que en los camélidos sudamericanos existen ovulaciones múltiples (Bravo *et al.*, 1993; Fernández-Baca *et al.*, 1970a), no se han reportado partos múltiples (Fernández Baca, 1974; San Martín *et al.*, 1968).

En llamas y alpacas se ha reportado la existencia de ovulaciones espontáneas en un rango del 3.5 % cuando los folículos preovulatorios tienen un diámetro mayor a 6mm (Bravo y Sumar, 1989). Esta situación se produce cuando hay contacto físico entra hembras y machos, y como producto de la manipulación del tracto reproductivo de la hembra durante las ecografías tras rectales (Ratto *et al.*, 1997; Sumar, 1994).

2.4.6 Cuerpo lúteo

Una vez producida la ovulación las células que formaban el folículo se transforman para formar el cuerpo lúteo y en lugar de estrógeno producirán progesterona. El pico de LH es responsable también del cambio celular: las células de la teca se luteinizan para dar lugar a las células luteales pequeñas y las células de la granulosa se hipertrofian dando lugar a las células luteales grandes (Hafez, 2000). El cuerpo lúteo se puede apreciar 4 días después de la ovulación a través de

ecografía tras rectal y se observará como una estructura de ecogenicidad media con una zona central muy ecogénica. Algunos cuerpos lúteos presentan una cavidad central (antro), no ecogénica, repleta de líquido cuyo diámetro oscila entre 3 a 8 mm (Adams *et al.*, 1991b). El cuerpo lúteo producirá progesterona cuyos niveles se incrementaran de 4 a 6 días después de la monta (Aba *et al.*, 1995; Sumar y García, 1986), y alcanzará su diámetro máximo (10 a 12 mm) 8 días después del coito, en ese tiempo también lograra su máxima producción de progesterona: 4,5 ng/ml aproximadamente (Aba *et al.*, 1995; Adams *et al.*, 1991a). De no haber gestación el cuerpo lúteo empezará a regresionar 8 ó 9 días después de la cópula, reduciéndose su tamaño a la mitad a los 12 días pos cópula, a su vez la producción de progesterona va disminuyendo, alcanzando sus niveles mas bajos 14 o 15 días después de la monta (Adams *et al.*, 1989; 1990; 1992; Fernández-Baca *et al.*, 1970a; Sumar y Bravo, 1991; Sumar *et al.*, 1988), y en este caso, las hembras vuelven a mostrar receptividad sexual 12 a 14 días después de la última cópula. De haber preñez el cuerpo lúteo se mantiene durante toda la gestación.

La capacidad secretora del cuerpo lúteo es directamente proporcional a los niveles plasmáticos de progesterona o los niveles urinarios de glucoronato de pregnanodiol, ya que se ha comprobado que los cambios en las concentraciones de ambas sustancias son paralelos a las variaciones en el tamaño del cuerpo lúteo (Bravo, 1994; 1991; England *et al.*, 1969; Fernández-Baca *et al.*, 1970a). Niveles séricos de progesterona superiores a 0,32 ng/ml (1 nmol/l) indican la existencia de un cuerpo lúteo funcional (Sumar *et al.*, 1988), sin embargo, Adams *et al.* (1991b), propone que para poder afirmar esto, es necesario encontrar concentraciones séricas mayores a 2 ng/ml (6,4 nmol/l).

La presencia de un cuerpo lúteo funcional no interrumpe el crecimiento de un nuevo folículo dominante, pero el elevado nivel circulante de progesterona reduce el crecimiento folicular, así tenemos que en presencia de cuerpo lúteo, el número de folículos en crecimiento y el diámetro máximo del folículo dominante se ve reducido, sin embargo, el intervalo entre oleadas no sufre ninguna modificación (Adams *et al.*, 1990).

La luteolisis en alpacas que ovularon pero que no preñaron ocurre a los 9 -12 días post ovulación (Fernández Baca *et al.*, 1970c). Leyva y García (1999) encontraron que la prostaglandina exógena afecta la vida del CL cuando se administra después del día 4 de la fase luteal inducida, sugiriendo que la PGF2 α es el agente luteolítico en camélidos.

2.4.7 Reconocimiento maternal de la preñez y gestación

En alpacas el largo de gestación en promedio es de 342 y 345 días para Huacayas y Suris respectivamente (San Martín *et al.*, 1968), en las llamas dura 350 ± 4.5 días (León *et al.*, 1990).

Procesos previos a la fecundación como la maduración del ovocito y el espermatozoide y la reacción acrosómica no han sido estudiados a profundidad en los camélidos, pero se asume que deben ser similares al resto de especies.

Después de la cópula los espermatozoides se dirigen hacia la unión útero - tubal, sitio que constituye el principal reservorio de espermatozoides en las alpacas y se quedan ahí hasta por 30 horas (Bravo *et al.*, 1996). Luego de producirse la fecundación en el oviducto el desarrollo siguiente del embrión es bastante rápido, es así que después de 4 días después de la cópula se pueden encontrar embriones de 4 a 8 células (Bravo *et al.*, 1996). Los embriones llegan al cuerno uterino a los 5 ó 6 días de la ovulación en forma de blastocitos en eclosión o recién eclosionados (Del Campo *et al.*, 1995), comienzan a elongarse entre los días 9 y 10 y se establece un estrecho contacto entre el trofoblasto y el endometrio en el día 12 de la gestación (Tibary, 2001).

Fernández-Baca *et al.* (1970), demostró que de 25% a 50% de los embriones mueren durante los primeros 30 días de gestación sin una causa determinada. Una de las causas que podría explicar este hecho, es que a pesar de que ambos ovarios contribuyen de manera similar a la producción de ovocitos, muy pocos de los embriones implantados en el cuerno derecho son capaces de sobrevivir al día 30 de gestación y ninguno consigue sobrevivir a partir del día 87. Otra posible causa sería el hecho de que en ambos cuernos los mecanismos involucrados en el reconocimiento maternal de la preñez sean distintos.

El embrión inicia la implantación el día 14 post-ovulación y empieza en el cuerno izquierdo y luego se extiende hacia el cuerno derecho, sin embargo las interdigitaciones que se forman entre las células epiteliales del endometrio y el trofoblasto del embrión solo aparecen en el cuerno izquierdo y no así en el derecho. Estas zonas al parecer facilitan el reconocimiento maternal de la preñez y luego el intercambio gaseoso entre la madre y el feto (Skidmore *et al.*, 1996; Olivera *et al.*, 2003).

La placenta de los camélidos es del tipo epiteliocorial y no presenta cotiledones como zonas específicas de fijación como sucede en los rumiantes. El epitelio del corion muestra numerosas proyecciones semicirculares que se unen a sus correspondientes depresiones en la mucosa uterina (Stevens *et al.*, 1980; Fowler, 1989; Smith, 1985).

Los camélidos son las únicas especies en la que existe una membrana fetal extra, que deriva de la epidermis y recubre la totalidad de la superficie fetal fijándose a las mucosas de la nariz, labios, ojos, ano, prepucio y vulva y su función se cree sería la de lubricación durante el parto, facilitando la salida de feto (Fowler y Olander, 1990).

No se sabe con toda precisión como se produce el reconocimiento maternal de la preñez en estas especies, sin embargo el hecho de que el 98% de las gestaciones se localicen en el cuerno izquierdo a pesar de que el cuerpo lúteo se presente de manera homogénea en ambos ovarios y que los embriones que inician su existencia en el cuerno derecho tengan que migrar hacia el cuerno izquierdo, nos indican que los Camélidos Sudamericanos presentan un mecanismo de control de la luteolisis diferente a los rumiantes.

De manera similar como sucede en los porcinos, se cree que el estradiol es usado como señal para el reconocimiento maternal de la preñez. Estudios realizados en dromedarios por Skidmore *et al.*, (1994) demostraron que los blastocistos presentan una elevada actividad aromatasa con la respectiva síntesis de estrona y estradiol entre los días 10 a 13 después del coito. De igual manera Powell *et al.*, (2007), demostró que los blastocistos de llama producen cantidades crecientes de 17β -estradiol entre los días 7 y 15 de gestación, con un marcado incremento entre los días 11 y 13, justo cuando el blastocisto se alarga. En el mismo estudio se demostró que la aplicación diaria de 10 mg de benzoato de estradiol entre los días 7 y 15, provoca un retraso en la luteolisis y el mantenimiento de la secreción de progesterona, por lo que se asume que la secreción de estradiol, podría significar la señal para el reconocimiento maternal de la gestación en las llamas y alpacas. Se cree además, que el estradiol podría intervenir en la migración del embrión al cuerno contra lateral, al provocar un incremento local de la contractilidad miometrial.

En las llamas y alpacas, el cuerpo lúteo es necesario durante la totalidad de la gestación (Sumar, 1988) y su eliminación o la administración de PGF 2α o de sus análogos provocan la interrupción de la gestación a las 24 a 72 horas en cualquier etapa de la misma (Smith *et al.*, 2000; Sumar, 1988a).

Los niveles séricos de progesterona se mantienen por encima de los 2 ng/ml durante toda la gestación, con ligeras fluctuaciones y con una reducción ligera durante las dos últimas semanas de gestación, sin embargo, 24 horas antes del parto la caída de progesterona es abrupta (Aba, 1998; León *et al.*, 1990). La importancia de la progesterona durante la preñez radica en que induce la quietud del miometrio, bloqueando el efecto inductor de receptores α -adrenérgicos del estradiol, cuya estimulación causa contracciones, además promueve la proliferación de las células del

endometrio para soportar la implantación del embrión y el desarrollo a término del feto (Hafez, 2000).

En cuanto al estradiol se ha demostrado que sus niveles son bajos al inicio de la gestación, para luego incrementarse a lo largo del tiempo que dura la gestación, alcanzando sus máximos niveles en el último mes, para finalmente sufrir un brusco descenso luego del parto (Aba *et al.*, 1995a; Aba *et al.*, 1998).

2.5 Anatomía del aparato reproductor de la alpaca macho

El pene es de tipo fibroelástico, mide de 35 a 40 cm de largo, es relativamente delgado y no se expande durante la erección. Presenta la forma de una “s” o flexura sigmoidea (Smith *et al.*, 1994). El glándulo del pene es largo (9 – 12 cm), y su punta presenta una proyección cartilaginosa, con una ligera rotación hacia la derecha. La desembocadura de la uretra se encuentra al costado de la estructura cartilaginosa. La curvatura natural del proceso cartilaginoso del pene del camélido permite la penetración de los anillos cervicales (Johnson, 1989)

El forro prepucial es de forma triangular con el orificio dirigido hacia atrás, por lo cual, la micción se efectúa en dicha dirección, en posición similar a la de la hembra. El prepucio se adhiere al glándulo del pene hasta los 2 ó 3 años de edad haciendo imposible la protrusión del pene en animales jóvenes (Fowler y Bravo, 1998). El prepucio tiene bien desarrollado el aparato muscular, conformado por los músculos craneal, lateral y caudal los cuales durante la erección, permiten proyectar el pene bajo el vientre, como ocurre en otros rumiantes (Tibary y Anouassi, 1997).

Los testículos son órganos pares, de forma ovoide. Se encuentran en las bolsas escrotales localizadas en la región perineal a nivel del arco isquiático y no son pendulantes (Sumar 1985); ambos testículos por lo general tienen el mismo tamaño. En la alpaca adulta, el peso promedio es de 18 g y mide de 3,5 a 4,5 cm de largo por 2 a 3 cm de ancho (Novoa y Leyva, 1996).

En alpacas y llamas es frecuente el descenso incompleto del testículo, anomalía conocida como criptorquidismo y, puede ser unilateral o bilateral. En otras especies, este defecto es considerado hereditario, debido a genes recesivos. Si en el momento del nacimiento los testículos no están en el escroto, el descenso puede ocurrir posteriormente, ya sea en forma parcial o completa. Sin embargo, el descenso lento debe ser considerado una anomalía, que es probablemente una variación de la expresión de los mismos factores que determinan fallas en el

descenso. Los machos con criptorquidismo bilateral son estériles, pero la mayoría muestra deseo sexual y los que muestran efectos unilaterales, presentan conducta sexual y producción de semen normal. Estos animales no deben ser usados para la reproducción, debido a la naturaleza hereditaria de sus defectos (IVITA, 2005).

Macroscópicamente, el epidídimo presenta tres porciones bien diferenciadas: la cabeza, relativamente voluminosa, que se inserta en la parte posterior del testículo; la porción intermedia o cuerpo, de forma aplanada, y la cola o porción terminal. La parte posterior, próxima a la uretra, muestra cierto engrosamiento. La longitud total del conducto es de 40 cm (Novoa y Leyva, 1996).

Los espermatozoides son producidos en los testículos, pero su maduración se realiza en la cabeza y el cuerpo del epidídimo, mientras que su almacenamiento se produce en la cola (Bearden y Fuquay, 1992; Elwishy, 1988).

Las alpacas y llamas presentan dos glándulas accesorias: la próstata y las glándulas bulbo uretrales. La próstata está ubicada dorsalmente al cuello de la vejiga y es normalmente descrita como una pequeña glándula en forma de H (3 cm x 3cm x 2 cm). Consta de un cuerpo con dos lóbulos unidos entre sí, que están próximos al primer segmento de la uretra; presenta adicionalmente, una porción diseminada que penetra en el músculo uretral. Las glándulas bulbo uretrales son pares, de forma ovoide, y están ubicadas a 7 ú 8 cm de la próstata y lateralmente a la uretra, en la salida pélvica. Cada glándula tiene un promedio de 2 cm de diámetro. En alpacas y llamas, no existe la vesícula seminal (Tibary y Anouassi, 1997).

2.6 Fisiología reproductiva dela alpaca macho

2.6.1 Pubertad

La pubertad es la etapa en la cual el macho es capaz de liberar gametos y mostrar comportamiento sexual (Hafez, 2002). Muchas alpacas machos pueden mostrar interés sexual a menos de los 12 meses de vida, sin embargo la erección y penetración son solo posibles cuando el pene esta libre de sus adherencias prepucales de origen embrionario (Escobar, 1984; Fowler, 1998; Sumar, 1985). Estas adherencias desaparecen gradualmente, a medida que el animal crece y se inicia la producción de testosterona en el testículo. Al año de edad solo un 8 a 10 % de alpacas se ha liberado de la adherencia pene-prepucial, mientras que a los 2 años el 70 % ya esta libre y a los 3

años, entre el 95 a 100% de machos presentan el pene totalmente libre del prepucio (Bustinza, 2001; Novoa y Leyva, 1996; Losno y Coyutupa, 1981; Chuna *et al.*, 1999).

Como ya se había dicho, el proceso del desprendimiento del prepucio normalmente empieza a los 12 o 13 meses de edad y coincide con el aumento de la concentración de testosterona plasmática. Por dosaje de los niveles séricos de testosterona se pudo determinar que la pubertad se inicia a los once meses, ya que a esa edad la producción promedio de testosterona se incrementa y alcanza los rangos considerados normales para machos adultos. A los 20 meses de edad en la mayoría de machos los niveles de testosterona son mayores a los 1000 pg/ml (Bravo, 1995; Bravo, 2002).

El peso promedio de las alpacas cuando se produce la liberación pene-prepucial es de 70.1 Kg., peso que se alcanza a la edad de 21.5 meses (Sumar, 1988).

2.6.2 Características del semen de alpaca

Las características físicas y biológicas del semen de las alpacas varían de acuerdo al método de colección empleado y a las condiciones medio ambientales (Tibary y Vaughan, 2006). Muchos son los métodos empleados para la colección de semen siendo los más utilizados los sacos intravaginales, la electro eyaculación, las esponjas intravaginales, los aspirados vaginales post coito y la fistulación de la uretra (Sumar, 1991), sin embargo el empleo de las vaginas artificiales montadas en maniquí o usando una hembra receptiva desviando el pene al momento de la monta es el método que ofrece muestras de semen de mejor calidad (Sumar, 2002).

El color del semen de las alpacas varía desde cristalino hasta blanco lechoso, algunos autores proponen que el color del semen es un indicativo de la concentración de espermatozoides (Bustinza, 2011), sin embargo en diversos trabajos realizados en el Laboratorio de Reproducción Animal, sección de Biotecnología Reproductiva FMV – UNMSM, hemos encontrado que el color blanquecino lechoso presentado por algunas muestras de semen de alpaca, se puede deber a la presencia de alta cantidad de detritus celulares.

El volumen de las muestras es muy variable y depende del método de colección empleado. El rango de volúmenes encontrados va desde los 0.4 ml hasta los 12.5 ml (Garnica *et al.*, 1993; Tibary y Vaughan, 2006).

El plasma seminal de las alpacas posee una alta viscosidad, peculiar característica que dificulta la realización de los procedimientos convencionales de evaluación en el laboratorio (Garnica *et al.*, 1993; Tibary y Vaughan, 2006); por este motivo la estimación de la concentración espermática por métodos convencionales es difícil, aunque es posible el conteo empleando un hemocitometro (Bravo *et al.*, 1997). Se han encontrado concentraciones que van de 82 a 250 millones de espermatozoides/ml de eyaculado, cantidades determinadas por el método de colección, la edad y la época del año en que se colectaron las muestras (Tibary y Vaughan, 2006).

La viscosidad del semen de alpaca determina patrones de motilidad particulares en esta especie, por ejemplo, no se puede apreciar la motilidad masal y la motilidad individual es considerada oscilatoria y no progresiva. Diferentes estudios nos muestran motilidades que están en el rango entre el 30.6% al 80.0% (Sumar y Leyva, 1981; Bravo *et al.*, 2002; Dávalos y Olazábal, 2002).

El porcentaje en promedio de espermatozoides anormales para el eyaculado de alpaca es de 25.2%, contando dentro de un rango que va desde el 14% al 41% (Mogrovejo, 1952; Bravo *et al.*, 1997; Dávalos y Olazábal, 2002).

Los valores encontrados por diferentes investigaciones en cuanto al pH se acercan a la neutralidad con ligera tendencia a la alcalinidad, encontrándose valores que van desde 7.2 a 7.5 (Bravo *et al.*, 1997), reportándose además que la frecuencia de eyaculados no tiene efecto significativo sobre el valor del pH (Galindo, 1995).

Del volumen total de una muestra de semen fresca de alpaca el 88.5 % corresponde al plasma seminal y el 11.5 % restante está constituido por los espermatozoides (Garnica *et al.*, 1993). El plasma seminal esta compuesto por las secreciones de las glándulas anexas, las cuales en el momento de la eyaculación son liberadas a la uretra para unirse a los espermatozoides (Sumar, 2000). Estas secreciones contienen diversos componentes bioquímicos que permiten la nutrición, el sustento y la maduración de los espermatozoides, a su vez facilitan su transporte. Así tenemos que la glucosa sirve como la principal fuente de energía para el espermatozoide siendo su concentración más alta en las muestras de semen de animales jóvenes que en las de adultos. Los lípidos y Fosfolípidos del plasma seminal son empleados como substratos para la maduración espermática (Garnica *et al.*, 1993).

En el cuadro 1 se presenta una lista con las concentraciones de cada uno de los principales componentes bioquímicos del plasma seminal.

Cuadro 1.- Componentes bioquímicos del plasma seminal de llamas y alpacas

Componentes	Unidad	Llama adulta	Alpaca 3 años	Alpaca 6 años	Rango	Camello Bactriano
Ácido cítrico	mg/dL		4.3 ± 0.3			
Cloro	mg/dL	402 ± 10	348 ± 32	404 ± 34	263 ± 91	173 ± 59
Calcio	mg/dL		19 ± 1	18 ± 3		13 ± 5
Fósforo inorgánico	mg/dL	10	12±2	0.8 ± 0.4	0.7 ± 17	13 ± 1
Glucosa	mg/dL	6 ± 0.3	7 ± 0.4	5 ± 0.3		12 ± 10
Fructosa	mg/dL	4 ± 0.2		6 ± 0.1		
Lípidos	mg/dL	106 ± 5	86 ± 10	95 ± 10		
Fosfolípidos	mg/dL		29 ± 0.1	29 ± 0.1	27 ± 31	
Nitrógeno total	mg/dL	623 ± 23	548 ± 50	647 ± 32	308 ± 697	
Proteínas totales	g /dL	4 ± 0.1	3 ± 0.3	4 ± 0.2		
Albumina	g /dL		2 ± 0.3	2 ± 0.7		
Globulinas	g /dL	1 ± 0.1	2 ± 0.2	1 ± 03		

(Garnica *et al.*, 1993; 1995)

2.7 Plasma seminal e inducción de ovulación

El plasma seminal facilita el transporte de los espermatozoides a través del tracto reproductor masculino y femenino durante la copula, además contiene proteínas, citoquinas, factores de crecimiento y hormonas que tiene efecto sobre los espermatozoides y las funciones del tracto reproductivo de la hembra.

Chen *et al.* (1985), reportó que el 87% de camellos bactrianos hembras a las cuales inseminó con plasma seminal ovularon sin haber copulado. A partir de este descubrimiento se ha venido investigando el papel del plasma seminal sobre la inducción de la ovulación (Ratto *et al.*, 2006).

Tomando como base lo descubierto por Chen (1985) y la relación filogénica de los camellos del viejo y los camélidos sudamericanos, Ríos (1989), insemino a alpacas hembras a nivel intravaginal

con semen de toros y alpacas enteros y plasma seminal de alpacas machos vasectomizados, induciendo a ovulación a las hembras inseminadas con semen de machos enteros, sugiriendo la existencia de un factor inductor de la ovulación en el semen de alpaca y toro mas no en el plasma seminal de machos vasectomizados.

Pan *et al.*, (2001) demostraron la existencia de una proteína asociada a la liberación de LH en el plasma seminal en camellos y cuya estructura molecular es completamente diferente a las formas nativas de LhRH, LH, HCG, PMSG y PGF-2 α , pero si tiene una bioactividad similar al GnRH.

En diversos estudios se sugiere de manera consistente que esta proteína tiene propiedades luteotrópicas ya que se ha determinado que los cuerpos lúteos desarrollados después de la administración de plasma seminal (Adams *et al*, 2005; Palian, 2010) o FIO purificado (Silva *et al*, 2011; Ulloa-Leal *et al*, 2014.) segregan sistemáticamente más progesterona que los inducidos después de aplicar GnRH.

La secreción de LH a partir de células de pituitaria cultivadas in vitro, después del tratamiento con plasma seminal de alpaca sugirió que el factor inductor de ovulación presente en el plasma seminal tiene un efecto similar a la GnRH a este nivel, pero que sin embargo no se trata de la misma molécula ya que inducen la liberación de LH de la hipófisis en diferente proporción, mayores estudios se requieren para dilucidar la manera precisa como el Factor Inductor de Ovulación actúa sobre la hipófisis (Paolicchi *et al.*, 1999; Bogle *et al.*, 2012).

Estudios llevados a cabo por Adams *et al.* (2005) ratificaron lo expuesto por Ríos (1985), al experimentar con llamas y alpacas hembras, aplicando por vía intramuscular plasma seminal de alpaca, plasma seminal de llama y solución salina, logrando la ovulación en las hembras que fueron tratadas con inyección intramuscular de 1 a 1,5 ml de plasma seminal de alpaca o llama. Además se comparó el efecto inductor del plasma seminal versus la aplicación de un análogo de GnRH, encontrándose que la elevación en la concentración plasmática de LH inducida por la aplicación intramuscular de plasma seminal fue mayor y perduró más tiempo que la provocada por la aplicación IM de GnRH. Además, el cuerpo lúteo formado después del tratamiento con plasma seminal fue más grande que el cuerpo lúteo formado por inducción de ovulación por GnRH. La concentración de progesterona plasmática fue dos veces mayor en el grupo tratado con plasma seminal en comparación a las tratadas con GnRH. El tiempo promedio desde la aplicación de tratamientos hasta la ovulación fue de $29,3 \pm 0,7$ horas. Estos estudios documentaron claramente la

existencia de un factor inductor de la ovulación en el plasma seminal de llamas y alpacas, y sugieren además, que el FIO y la GnRH son moléculas diferentes.

Otro estudio determinó que el efecto del plasma seminal es a nivel sistémico y no local (Ratto *et al.*, 2005). En este estudio, un grupo de alpacas hembras fueron tratadas con 2 ml de plasma seminal por vía intramuscular, otro grupo por infusión intrauterina y un tercer grupo por infusión intrauterina seguido por legrado endometrial. La proporción de hembras que ovularon fue mayor en el grupo tratado por vía intramuscular (93%) en comparación con el grupo tratado de forma intrauterina (41%), mientras que el grupo tratado con infusión intrauterina y curetaje endometrial mostro un porcentaje intermedio entre los dos grupos anteriores (67%). Este estudio sugiere que el legrado endometrial puede facilitar la absorción del factor de inducción de la ovulación.

Se ha demostrado la presencia del factor inductor de ovulación en el plasma seminal de las especies de ovulación espontanea (Ratto *et al.*, 2006; López *et al.*, 2006; Pan. 1992; O'Leary , 2006; Bogle *et al.*, 2011), no siendo del todo clara aun la función que cumple en estas especies (Tribulo, 2012). Se ha sugerido que un numero considerable de llamas llego a ovular al ser previamente inyectadas con plasma seminal de toros (Ratto *et al.*, 2006; López *et al.*, 2006).

El efecto sobre la ovulación del plasma seminal de los verracos depositado en el útero de las marranas no es aun del todo conocido. Sin embargo los estudios sugieren que los efectos del plasma seminal en la función ovárica pueden contribuir al éxito reproductivo en las cerdas, ya que al parecer no afectan el numero de ovulaciones pero si determinan un incremento en el tamaño del cuerpo lúteo y un aumento en la concentración plasmática de progesterona (O'Leary *et al.*, 2006).

En estudios recientes en alpacas (Kershaw-Young *et al.*, 2012), y en llamas (Ratto *et al.*, 2012) se logro realizar la caracterización molecular y la identificación del factor inductor de ovulación, demostrando su naturaleza proteica de una masa molecular de 13.2 KDa, y 12-23 AA (Ratto *et al.* 2012), la cual es compatible con la neurotrofina conocida como Factor de Crecimiento Neural β (β -NGF). El mecanismo por el cual esta proteína induce la ovulación está mediado por un efecto directo a nivel central en el eje hipotálamo – hipofisario, estimulando la secreción hipofisaria de LH por una acción anterior sobre las neuronas de GnRH del hipotálamo (Silva *et al.*, 2011), siendo este efecto parcialmente modulado por la concentración periférica de estradiol (Silva *et al.*, 2012), y dependiente de la dosis del FIO que indujo la ovulación (Tanco *et al.*, 2011).

De acuerdo con Tanco *et al.* (2011), 1/200^{va} parte de la concentración total del FIO de un eyaculado promedio, correspondiente a 60 μ g de OIF purificado, es la dosis mínima que una vez

administrada vía IM, induce una buena tasa de ovulación y el consiguiente buen desarrollo del cuerpo lúteo. Reyna (2013), encontró que la dilución 1:8 (vol./vol.) de plasma seminal de alpaca en PBS, es la dilución mínima para producir ovulación. Con estas consideraciones, en el presente trabajo se determinó utilizar una dosis de 1 ml de dilución 1:1, vol./vol. en PBS en el grupo de animales tratados con plasma seminal IM.

I. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de estudio

La parte experimental del estudio fue realizado durante los meses de Enero a Marzo del 2013, en el Centro de Investigación y Producción QUIMSACHATA, anexo de la Estación Experimental ILLPA, perteneciente al Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), ubicada a 4200 msnm, 15°45' de latitud sur y 70°34' longitud oeste, en el distrito de Cabanillas, provincia de San Román, en el departamento de Puno, región natural del altiplano, zona agroecológica Puna Seca. Su temperatura máxima es de 16, 54°C y la mínima de -01,05 °C, con una temperatura promedio de 10.87°C entre los meses de Enero a Marzo. La precipitación pluvial oscila entre 400 y 688 mm al año, siendo los meses más húmedos los comprendidos entre Diciembre y Marzo, datos meteorológicos obtenidos del registro diario que se toma dos veces por día en la caseta meteorológica del CIP Quimsachata.

3.2 Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra fue obtenido mediante la fórmula para el estudio de incidencia con un valor común para nivel de confianza del 99%:

$$n = \frac{k^2 N p q}{e^2 (N - 1) + k^2 p q}$$

Donde:

- k: Es una constante que depende del nivel de confianza que asignemos. En este caso el valor de k tabulado es de 6,63.
- N: Tamaño de la población que cumple los requisitos para entrar en el estudio. En la presente investigación es de 185 animales.
- p: Probabilidad de ovulación según investigaciones anteriores (90% = 0.9).
- q: Probabilidad de no ovulación, 1 – p.
- e: Error de muestreo (5%).

De donde n es igual a 104,47, por lo que el tamaño de la muestra del estudio es de 105 animales.

3.3. Unidades Experimentales

Se utilizaron un total de 117 alpacas adultas de 3 a 7 años de edad, vacías, con descendencia registrada y sin cría al pie al momento de la selección, 100 de la variedad Huacaya y 17 de la variedad Suri, con presencia comprobada de folículo pre ovulatorio (≥ 7 mm), mediante ecografía; las cuales se mantuvieron separadas del contacto con los machos, hasta el momento del empadre controlado. Todos los machos empleados pertenecían al plantel de reproductores y tenían descendencia registrada. Todos los animales empleados recibieron las mismas condiciones de manejo y fueron alimentados con pastos naturales.

3.4. Obtención del plasma seminal

El plasma seminal (PS) fue obtenido a partir del semen de 5 alpacas machos (3 a 7 años) en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, sección de Biotecnología Reproductiva (12°04' latitud Sur, 76°59'

longitud Oeste y a 191 metros sobre el nivel del mar). La colección de semen fue realizado una o dos veces por semana durante tres meses antes del inicio del experimento; para tal efecto se empleo una vagina artificial de ovinos adaptando su uso para alpacas, obteniendo un total de 12 eyaculados por animal aproximadamente. Las muestras de semen se procesaron de acuerdo a los procedimientos descritos previamente por Adams *et al.* (2005). Cada eyaculado se diluyó 1:1 (vol./vol.) con buffer fosfato salino (PBS, Gibco, Grand Island, NY, EE.UU.), luego se centrifugó durante 30 minutos a 1500g a temperatura ambiente para eliminar la fracción celular del semen. El sobrenadante fue recuperado y una gota del mismo se evaluó por microscopía para confirmar la ausencia de espermatozoides o cualquier resto celular. Si se observaba aun la presencia de espermatozoides, se repetía nuevamente el procedimiento anterior 1 ó 2 veces, hasta no observar células. El plasma seminal libre de espermatozoides se almacenó en tubos Falcon de 10 ml, agregándole previamente Sulfato de Gentamicina a razón de 10 mg por cada 10 ml de solución, para luego ser llevado a congelación a -20°C hasta su uso.

3.5. Diseño Experimental

a. Evaluación ecográfica pre-experimental y aplicación de los tratamientos

En el día de inicio del experimento (D0) se realizó la selección de las 117 alpacas hembras en base a la presencia de folículos ováricos ≥ 7 mm de diámetro, observados mediante un ecógrafo portátil (Aquila, Esaote-Pie medical, Maastricht, Holanda) equipado con un transductor lineal de 8Mhz, posteriormente las hembras seleccionadas fueron servidas por monta natural para luego ser distribuidas aleatoriamente mediante la extracción de balotas, en 3 grupos; al primero se le administró 1 ml de solución de plasma seminal diluido 1:1 (vol./vol.) en PBS, al segundo grupo se le aplicó 1 ml de un análogo de GnRH (0.0042 mg de acetato de buserelina) (Conceptal, Intervet International GmbH, Alemania), ambos vía inyección intramuscular y al último grupo no se le administro producto alguno.

Cuadro 2. Distribución de Grupos experimentales

GRUPO	TRATAMIENTO	Nº DE ANIMALES
T ₁	Plasma seminal	40
T ₂	GnRH	39
T ₃	Control	38

b. Diagnóstico de gestación

A los 25 días post copula (D25) del total de hembras (n = 117), se seleccionaron aquellas que solo habían recibido un solo servicio hasta esa fecha (n = 105) y fueron evaluadas por ecografía, para determinar gestación en base a la observación de estructuras uterinas compatibles con presencia de un embrión. Cabe señalar que dos animales tratados con GnRH fueron retirados de la evaluación, el primero por no poseer registros claros del tamaño del folículo dominante y el tiempo de cópula y el segundo porque murió antes de llegar a la evaluación ecográfica del día 25.

c. Determinación de la supervivencia embrionaria

Se realizó evaluación ecográfica el día 62 post cópula (D62), a aquellas hembras que en el día 25 estaban preñadas y no repitieron servicio, para determinar el número de animales que mantuvieron la preñez.

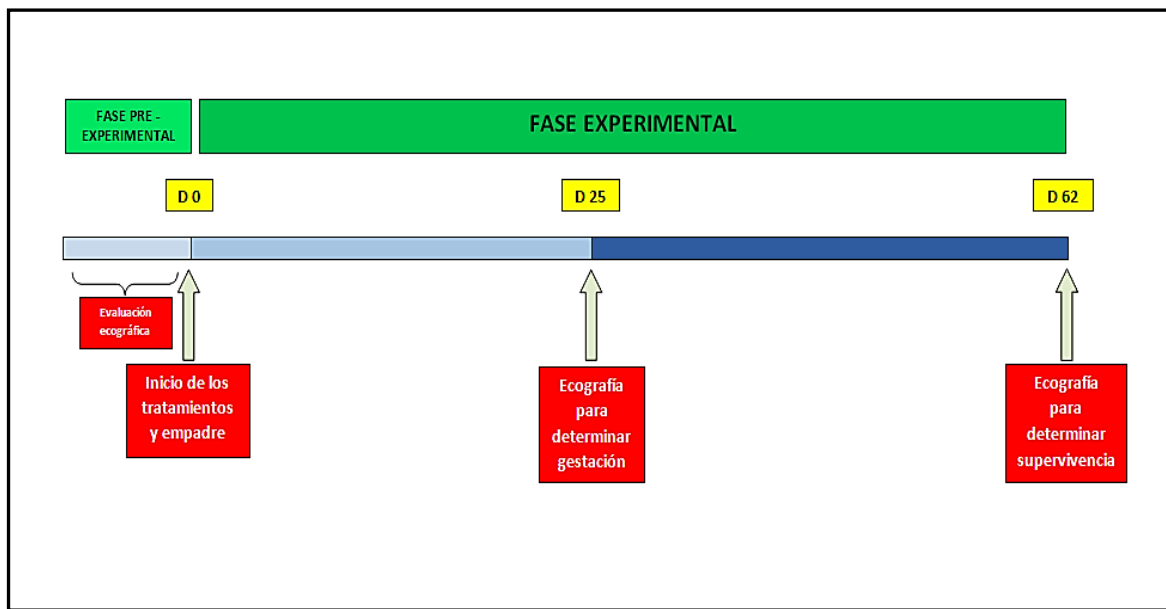


Fig. 1. Diseño experimental

3.6 Análisis Estadístico

Se utilizó el programa SPSS (SPSS Inc. Chicago, USA) para el análisis de los datos obtenidos. Las diferencias entre el tamaño del folículo dominante y los tiempos de cópula entre los grupos de investigación al inicio del experimento fueron evaluados por la prueba de análisis de varianza (ANOVA). La tasa de concepción al día 25 post monta y la tasa de supervivencia embrionaria al día 62 post monta, fueron comparadas entre los grupos de estudio a través de la prueba de CHI – cuadrado. Los valores que se muestran en las diferentes tablas están expresados como conteos totales y se consideró que las diferencias observadas eran estadísticamente significativas cuando $P < 0,05$.

II. RESULTADOS.

4.1 Tamaño del Folículo Dominante

El tamaño del folículo dominante en el momento del servicio fue similar para los tres grupos tratados, teniendo en todos los casos un tamaño superior a 7 mm, no encontrándose diferencia estadística significativa en la comparación de los tamaños de folículos pre ovulatorios al momento de la aplicación de los tratamientos (Cuadro 3)

Cuadro 3. Tamaño del folículo dominante al inicio de la aplicación de los tratamientos

Grupo de evaluación	Número de hembras al momento de la cópula	Media (mm)	Desvío estándar	Mínimo (mm)	Máximo (mm)
T ₁	40	8.09	±1.01	7	11
T ₂	39	8.26	±1.07	7	11
T ₃	38	8.40	±1.06	7	12

Las diferencias entre grupos no tienen significancia estadística ($P \geq 0.05$).

4.2 Tiempo de Cópula

Los resultados nos muestran que los rangos de tiempos de copula fueron similares entre los tres grupos de evaluación, determinando medias muy similares. En la evaluación estadística no se

encontraron diferencias significativas entre los grupos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Tiempos de cópula durante la monta controlada al inicio del experimento

Grupo de evaluación	Número de hembras al momento de la cópula	Media (mm)	Desvío estándar	Mínimo (mm)	Máximo (mm)
T ₁	40	18.57	±6.37	5	32
T ₂	39	20.71	±5.96	6	35
T ₃	35	19.54	±6.34	6	38

Las diferencias entre grupos no tienen significancia estadística ($P \geq 0.05$).

4.3 Tasa de Concepción.

En el cuadro 5 se presentan los resultados obtenidos donde se pueden observar diferencias en cuanto a la tasa de concepción, siendo este ligeramente mayor en T₁, en comparación a T₂ y T₃, sin embargo dichas diferencias no tienen significancia estadística.

Cuadro 5: Tasa de concepción 25 días después de iniciados los tratamientos

Grupo de evaluación	Tratamiento	Número de hembras servidas (n)	Número de hembras preñadas al día 25 (n)	Tasa de concepción (%)
T ₁	Plasma	40	27	67.5*
	Seminal			
T ₂	GnRH	39	20	51.3*
T ₃	Control	38	21	55.3*

* Las diferencias entre grupos no tienen significancia estadística ($P \geq 0.05$).

4.4 Supervivencia Embrionaria

Según se indica en el cuadro 6 y en la figura 3, de los animales diagnosticados gestantes a los 25 días post tratamiento y que solo tuvieron un solo servicio, se encontró una mayor tasa de supervivencia embrionaria al día 62 post cópula, en los animales de T₁ respecto a T₂ Y T₃ sin embargo esta diferencia no es estadísticamente significativa.

Cuadro 6: Tasa de supervivencia embrionaria 62 días después de iniciados los tratamientos

Grupo de evaluación	Tratamiento	Número de hembras preñadas el día 25 post cópula	Número de hembras preñadas el día 62 post cópula	Supervivencia embrionaria (%)
T ₁	Plasma Seminal	27	25	92.6*
T ₂	GnRH	20	16	80.0*
T ₃	Control	21	18	85.7*

* Las diferencias entre grupos no tienen significancia estadística ($p > 0.05$).

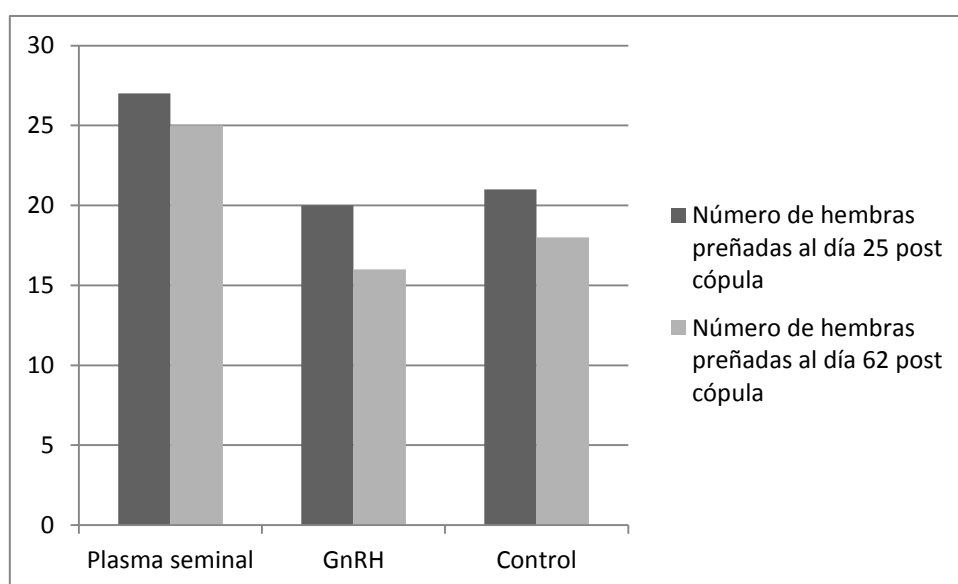


Fig. 2. Comparación del número de hembras preñadas entre el día 27 y el día 62 post cópula en cada uno de los grupos de evaluación.

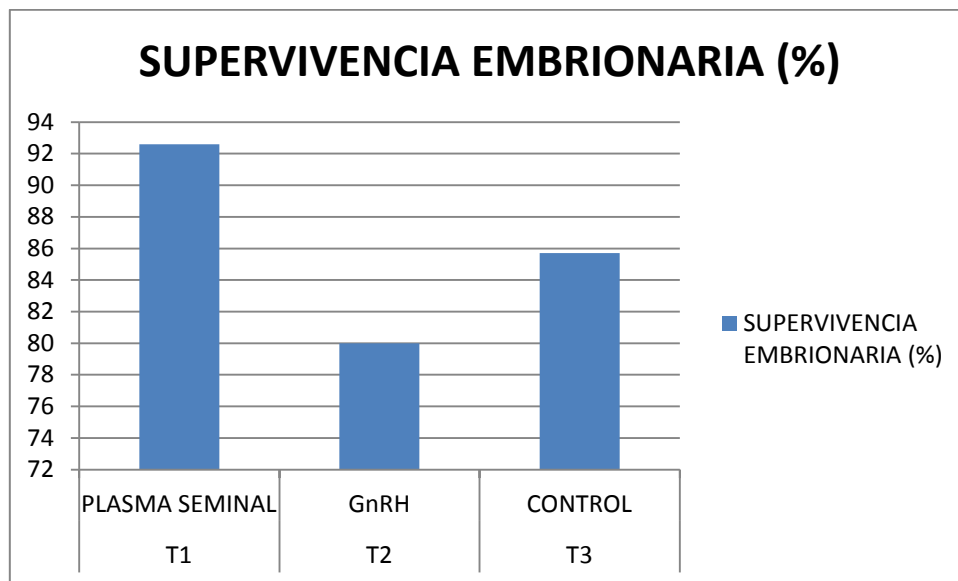


Fig. 3. Supervivencia embrionaria calculada al día 62 post servicio para cada grupo de evaluación

III. DISCUSIÓN

Investigaciones anteriores han demostrado la existencia de un factor inductor de ovulación (FIO) de naturaleza proteica compatible con la neurotrofina conocida como Factor de Crecimiento Neural β (β -NGF), (Ratto *et al.* 2012 y Kershaw-Young *et al.* 2012), de una masa molecular de 13.2KDa, y 12-23 AA (Ratto *et al.* 2012), presente en el plasma seminal de camélidos, porcinos, bovinos, roedores e incluso en los humanos. En la mayoría de estas especies se demostró su capacidad de inducir ovulación y su potente acción luteotrópica, siendo esta actividad reportada por Adams *et al.* (2005), Palian (2010) y Ulloa-Leal *et al.* (2014).

En las condiciones de la presente investigación, con una orientación de un estudio para aplicaciones de campo no se determinaron la tasa de ovulación, ni el tamaño de cuerpo lúteo (CL), ni los perfiles séricos de progesterona y LH, como efecto de la aplicación IM de plasma seminal, sin embargo, podemos sugerir basados en los estudios previos realizados por Adams *et al.* (2005), López *et al.* (2006), Palian (2010) y Ulloa-Leal *et al.* (2014), que la aplicación intramuscular de plasma seminal o FIO, determina tasas de ovulación superiores al 90% en las hembras tratadas.

Los resultados obtenidos muestran que el 67.5% de las hembras tratadas con plasma seminal, preñaron con un solo servicio en comparación al 51.3% de las que fueron tratadas con el análogo de GnRH, resultados que concuerdan con lo reportado por Palian (2010), quien demostró que los animales inducidos a ovulación con plasma seminal obtienen una mayor porcentaje de concepción (71,1%), en comparación a las alpacas tratadas con el análogo de GnRH (57,1 %). En cuanto a la tasa de supervivencia embrionaria, se encontró que el grupo tratado con plasma seminal presentó una mayor diferencia numérica (92,6%), que el grupo tratado con GnRH (80%) y el grupo control (85,7%). Estos hallazgos pueden explicarse por la mayor liberación de progesterona producida por el cuerpo lúteo formado luego de la ovulación inducida por el FIO presente en el plasma seminal.

En investigaciones previas, Adams *et al.* (2005) y Ulloa-Leal *et al.* (2014) reportaron que el cuerpo lúteo aparece aproximadamente a los 2.5 días posteriores a la aplicación IM de plasma seminal, FIO purificado o un análogo de GnRH, alcanzando su máximo tamaño 8 días post aplicación de los tratamientos, no encontrándose diferencia significativa en el tamaño máximo producido por cada tratamiento, sin embargo, en cuanto a los niveles séricos de progesterona, Adams *et al.* (2005), encontró que la concentración plasmática de progesterona fue el doble en las llamas tratadas con plasma seminal (4.7 ng/ml), en comparación a las tratadas con GnRH (2.3 ng/ml); alcanzando un pico máximo de manera brusca en ambos tratamientos a los 7 días post aplicación, para caer posteriormente hacia el día 11, a niveles similares a los encontrados previo al inicio de los tratamientos. La liberación, y la concentración sérica de LH, así como el tiempo que dichas concentraciones se mantienen, es mayor como respuesta al tratamiento IM con plasma seminal o FIO purificado en comparación con la aplicación IM de GnRH (Adams *et al.* 2005). Tanco *et al.* (2011), sugiere además, que el desarrollo del cuerpo lúteo es directamente proporcional a la concentración de LH durante su pico pre ovulatorio, así también, establece que estas respuestas fisiológicas son dependientes de la dosis de FIO empleada para inducir la ovulación.

Los resultados nos muestran también que el grupo tratado con el análogo de GnRH presentó el menor porcentaje de concepción al día 25 y la menor tasa de supervivencia embrionaria al día 62 post cópula en comparación a los otros dos grupos de estudio, lo cual de acuerdo a lo encontrado por Bravo *et al.* (1992), se explicaría por el efecto refractario producido por las altas concentraciones de GnRH en algunos de los animales de este grupo de estudio; dado que la aplicación del tratamiento con GnRH después de la monta constituye una segunda dosis de tipo exógena, siendo la primera la liberada de manera endógena por el Hipotálamo como respuesta a la inducción por el FIO presente en el plasma seminal del macho depositado durante la cópula, de acuerdo a lo propuesto en el estudio realizado por Silva *et al.* (2011).

El FIO actúa de forma sistémica sobre el eje Hipotalámico-Hipofisario-Gonadal en las hembras de los camélidos (Panez *et al.* 2009) y su efecto sobre las células gonadotropas de la hipófisis anterior cultivadas *in vitro*, determina la liberación de mayores volúmenes de LH en comparación con el efecto producido por la GnRH, hecho que sugiere que la acción liberadora de estos agentes inductores utiliza mecanismos diferentes (Paolicchi *et al.* 1999 y Bogle *et al.* 2012); sin embargo el camino fisiológico a través del cual el FIO determina la liberación de LH en el organismo de las hembras de los camélidos *in vivo*, no ha sido totalmente esclarecida.

Se ha establecido que la neurotrofina β -NGF, se une a sus receptores p75 NGFR y tirosina Kinasa A (trkA) para promover el crecimiento, el mantenimiento, la proliferación y la diferenciación de las células de la teca y la granulosa de los folículos pre antrales y antrales, de manera independiente a la acción de las gonadotrofinas (Tesarollo, 1998); todo esto sugiere que β -NGF cumple una función determinante en la regulación del desarrollo de la función reproductiva (Dissen *et al.* 2001). Salas *et al.* (2006), al investigar con células de granulosa humana cultivadas *in vitro*, encontró que tenían la capacidad de responder al β -NGF, regulando la esteroidogénesis (inhibiendo la luteinización *in vitro*) y aumentando la expresión de receptores para FSH. Se ha demostrado además, que β -NGF, participa en la angiogénesis que acompaña al desarrollo folicular y a la formación del cuerpo lúteo a través del aumento de la expresión del factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF) en las células de la granulosa, determinando una mayor vascularización del cuerpo lúteo (Ulloa-Leal *et al.* 2014), lo que a su vez, explicaría porque hay una mayor liberación de progesterona en las hembras tratadas por vía IM con plasma seminal o FIO purificado, a pesar de que el máximo diámetro alcanzado por el cuerpo lúteo sea el mismo que el encontrado luego de la aplicación de GnRH como inductor de ovulación.

Con todas estas consideraciones podemos inferir que el FIO, al ser un homólogo del β -NGF, podría tener efecto local en el ovario. A pesar de que el mecanismo de acción que sigue el FIO a nivel ovárico no es del todo claro, se puede sugerir que la aplicación de plasma seminal por vía IM en los días próximos al reconocimiento maternal de la preñez, podría tener un mayor efecto positivo sobre la supervivencia embrionaria, dado que el efecto luteotrópico del FIO reforzaría la función del cuerpo lúteo y el incremento de la esteroidogénesis folicular incrementaría la producción de estradiol por los folículos dominantes del ovario, potenciando la acción del estradiol producido por el blastocito en desarrollo para evitar la luteolisis, facilitando así el proceso de reconocimiento maternal de la preñez y la implantación del embrión en el útero (Chipayo *et al.* 2003 y Powell *et al.* 2007).

IV. CONCLUSIONES

La aplicación intramuscular de plasma seminal en alpacas hembras inmediatamente después de la cópula incrementa el porcentaje de la supervivencia embrionaria en comparación a la aplicación de GnRH o la sola monta natural, sin embargo dicho incremento no es estadísticamente significativo..

V. LITERATURA CITADA

1. Aba M., Forsberg M., Kindahl H., Sumar J., Edqvist L. 1995. Endocrine changes after mating in pregnant and non-pregnant llamas and alpacas. *Acta Vet. Scand.* 36:489-498.
2. Aba M., Sumar J., Kindahl H., Forsberg M., Edqvist L. 1998. Plasma concentrations of 15-ketodihydro-PGF (2- α), progesterone, estrone sulfate, estradiol -17- β and cortisol during late-gestation, parturition and the early postpartum period in llamas and alpacas. *Animal Reproduction Science.* 50: 111-121.
3. Aba M., Kindahl H., Forsberg M., Quiroga M., Auza N. 2000. Level of progesterone and changes in prostaglandin F2 α release during luteolysis and early pregnancy in llamas and the effect of treatment with flunixin meglumine. *Anim. Reprod. Sci.* 59: 87 – 97.
4. Adams G., Griffin PG., Ginther OJ. 1989. In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus and cervix in llamas. *Biology of Reproduction.* pp: 551-558.
5. Adams G., Sumar J., Ginther O. 1990. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*) *J. Reproduction and Fertility.* 90:535-545.
6. Adams G., Sumar J., Ginther OJ. 1991a. Hemorrhagic ovarian follicles in llamas. *Theriogenology.* 35: 557-568.
7. Adams GP., Sumar J., Ginther OJ. 1991b. Form and function of the corpus luteum in llamas. *Anim. Reprod. Sci.* 24: 127-138.
8. Adams GP., Matteri RL., Ginther OJ. 1992. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 96: 627-664.
9. Adams GP. 1997. Pregnancy diagnosis in the llama. In: RS Younquist, editor. *Current therapy in large animal theriogenology.* Philadelphia, PA: Saunders. pp: 808-812.

10. Adams GP. 1999. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 54: 17-32.
11. Adams GP., Ratto MH. 2001. Reproductive biotechnology in South American Camelids. *Rev. Inv.Vet. Perú. Suppl.* 1: 134 -141.
12. Adams G., Ratto M., Huanca W., Singh J. 2005. Ovulation-Inducing Factor in the Seminal Plasma of Alpacas and Llamas. *Biol Reprod.* 73: 452 – 457.
13. Adams G. 2007. Aplicación of the bovine model for the study of ovarian function in other species. En: XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA-Cusco-Perú: Asociación Latinoamericana de Producción Animal - Asociación Peruana de Producción Animal. Pp: 7 – 19.
14. Bakker J., Baum M. 2000. Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. *Front. Neuroendocrinol.* 21(3): 220-262.
15. Bearden J., Fuquay J. 1982. Reproducción animal aplicada. 1º Ed. México: Manual Moderno. 185 p.
16. Bogle O., Ratto M., Adams G. 2011. Evidence for the conservation of biological activity of ovulation-inducing factor in seminal plasma. *Biol Reprod.* 142: 277–283.
17. Bogle O., Ratto M., Adams G. 2012. Ovulation-inducing factor (OIF) induces LH secretion from pituitary cells. *Animal Reproduction Science* 133: 117– 122.
18. Bravo W., Sumar J. 1989. Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. *Anim Reprod Sci.* 21: 271 – 281.
19. Bravo W., Fowler ME., Stabenfeldt GH., Lasley B. 1990. Ovarian follicular dynamics in the llama. *Biology Reproduction.* 43: 579-585.
20. Bravo W., Stabenfeldt G., Lasley B., Fowler M. 1991. The effect of ovarian follicular size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated South American camelids. *Biol. Reprod.* 45: 553-559.
21. Bravo W., Stabenfeldt G., Fowler M., Lasley B. 1992. Pituitary response to repeated copulation and/or gonadotropin-releasing hormone administration in llamas and alpacas. *Biol. Reprod:* 47: 884-888.
22. Bravo W., Varela MH. 1993. Prenatal development of the alpaca (*Lama pacos*). *Anim. Reprod. Sci.* 32: 245-252.
23. Bravo WM., Fowler ME., Lasley BL. 1994. The postpartum llama: fertility after parturitium. *Biol. Reprod.* 51: 1084-1087.
24. Bravo W., Lasley B., Fowler M. 1995. Resumption of ovarian follicular activity and uterine involution in the postpartum llama. *Theriogenology.* 44: 783-791.

25. Bravo W., Moscoso J., Ordoñez C., Alarcón V. 1996. Transport of spermatozoa and ovarian in female alpaca. Anim. Reprod. Sci. 43: 2 – 3.
26. Bravo PW., Flores U., Garnica J., Ordoñez C. 1997. Collection of semen and artificial insemination of alpacas. Therionology 47: 619 – 626.
27. Bravo WM, Sidkmore JA, Zhao X. 2000. Reproductive aspects and storage of semen camelids. Anim. Reprod. Sci. 62: 173-193.
28. Bravo. W., Moscoso R., Alarcón V., Ordoñez C. 2002. Ejaculatory process and related semen characteristics. Archives of Anthology. 48: 65-72.
29. Burton M., Burton R., Marshall C Corp. 1969. The International Wildlife Encyclopedia. B.P.C. Publishing Limited, New York. 10: 1329-1331.
30. Bustinza V. 2001. La alpaca: Conocimientos del gran potencial andino. Ed. Instituto de investigación y promoción de Camélidos Sudamericanos. Puno. p 148 – 184.
31. [CITE-Alpaca]. Centro de Investigación Tecnológica. 2006. Diagnóstico del Sector Alpaquero en el Perú. Programa de Innovación Tecnológica MTINCI – AECI. Lima-Perú.
32. Conaway CH. 1971. Ecological adaptation and mammalian reproduction. Biol Reprod 4(3): 239-247.
33. Cháves MG., Aba MA., Agüero A., Egey J., Berestin V., Rutter B. 2002. Ovarian follicular wave pattern and the effect of exogenous progesterone on follicular activity in non-mated llamas. Animal Reproduction Science. 69: 37-46.
34. Chen B., Yuen Z., Pan G. 1985. Semen-induced ovulation in the Bactrian camel (*Camelus bactrianus*) J Reprod Fert. 73: 335 – 338.
35. Chipayo Y., Leyva V., García W. 2003. Efecto del estradiol en el periodo de reconocimiento maternal de la preñez sobre la supervivencia embrionaria en alpacas. Rev. Inv. Vet. Perú 14 (2): 111-118.
36. Chuna P., Leyva V., Franco V. 1999. Adherencias pene – prepuciales y niveles de testosterona circulantes en alpacas. Rev.Inv. Vet. Perú. 10(2): 11 – 16.
37. Dávalos R., Olazábal J. 2002. Evaluación de dos formas de colección de semen en alpacas. Rev. Inv. Vet. Perú. 13 (2): 98 – 99.
38. Del Campo MR., Del Campo CH., Adams GP., 1995. The application of new reproductive technologies to South American camelids. Theriogenology. 43: 21 – 30.
39. Del Campo MR., Del Campo CH., Donoso MX., Ginther OJ., 1996. Recuperación y morfología de ovocitos de llamas (*Lama glama*). I Congreso Mundial sobre camélidos. Cajamarca–Perú. pp: 7.

40. Dissen G., Romero C., Hirshfield A., Ojeda S. 2001. Nerve growth factor is required for early follicular development in the mammalian ovary. *Endocrinology* 142(5): 2078-2086.
41. Elwishy, A. 1998. Reproduction in the male dromedary (*Camelus dromedaries*): A review. *Anim. Reprod. Sci.* 17: 217 – 241.
42. Elwishy AB. 1992. Functional morphology of the ovaries of the dromedary camel. En: Allen W R, Higgins A J, Mayhew I G, Snow D H y Wade J F (Eds), *Proc. Inst Camel Conf.* R&W Publications (New market), UK. pp: 149-154.
43. England BG., Foote WC., Matthews DH., Cardozo AG., Riera S. 1969. Ovulation and Corpus luteum function in the llama (*Lama glama*). *J. Endocr.* 45:505-513.
44. England BG., Foote WC., Cardozo AG., Matthews DH., Riera S. 1971. Oestrus and mating behavior in the llama (*Lama glama*). *Anim. Behav.* 19: 722-726.
45. Escobar R. 1984. The Llama, animal Breeding and Production of South American Camelids. Ed Hennig R. 358 p.
46. [FAO]. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2005. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina TCP/RLA/2914: Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú. 62p.
47. Fernández - Baca S., Novoa C. 1968. Conducta sexual de la alpaca (*Lama pacos*) en empadre a campo. *A.L.P.A. Memoria.* 3: 7-20.
48. Fernández-Baca S., Maden DH., Novoa C. 1970a. Effect of different mating stimuli on induction of ovulation in the alpaca. *J. Reprod. Fert.* 22: 261-267.
49. Fernández Baca S., Hansel W., Novoa C. 1970b. Embryonic mortality in the alpaca. *Biol. Reprod.* 3: 243 – 251.
50. Fernández-Baca S., Hansel W., Novoa C. 1970c. Corpus luteum functions in the alpaca. *Biol. Reprod.* 3:252-261.
51. Fernández-Baca S., Novoa C., Sumar J. 1972. Actividad reproductiva en la alpaca mantenida en separación del macho. *Mem. ALPA.* 7: 7-18.
52. Fernández-Baca S., Novoa C., Sumar J. 1974. Pubertad en alpacas. *Avances de Investigación. Bol. de Div. N° 15 IVITA UNM San Marcos. Lima-Perú.* pp: 129-138.
53. Fernández-Baca S. 1991. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. *FAO. ONU. Chile.* p 1-3.
54. Fernández-Baca S. 1993. Manipulation of reproductive functions in male and female New World camelids. *Animal Reproduction Science.* 33: 307 – 323.

55. Fowler ME. 1989. Medicine and surgery of South American Camelids. Llama, Alpaca, Vicuña, Guanaco. Iowa State University Press, Ames.
56. Fowler M., Olander H. 1990. Fetal membranes and ancillary structures of llamas (*Lama glama*). Am. J. Vet. Res. 51: 1495-1500.
57. Fowler M., Bravo W. 1998. Reproduction. En: Fowler, M.E. (Ed), Medicine and surgery of South American Camelids, Second Ed. Iowa State University Pres. USA. p. 381 – 429.
58. Galindo W. 1995. Efecto de eyaculaciones sucesivas sobre las características del semen de alpacas. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Puno. Univ. Nac. del Altiplano. p 25.
59. Garnica J., Achata R., Bravo W. 1993. Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. Anim Reprod Sci. 32: 85 – 90.
60. Hafez, B. 2000. Reproducción e Inseminación Artificial en animales. 7º ed. México. McGraw– Hill. 519 p.
61. Huanaco E., Rodríguez T. 1986 Informe preliminar sobre comparación de los sistemas de empadre en alpacas. Resumen I Convención Nacional en producción de camélidos sudamericanos. Oruro Bolivia. pp: 7-14.
62. [IPAC] Instituto Peruano de alpacas y Camélidos. 2005. Documento de trabajo inter-institucional del Sector Alpaquero. Arequipa. Perú.
63. [IVITA] Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura. 2005. Manual del técnico alpaquero. Sicuani. Perú. p 105.
64. Johnson L. 1989. Llama reproduction. Vet. Clin. N. Am. Food Anim. 5: 159 – 182.
65. Kastelic JP., Bergfelt DR., Ginther OJ. 1990. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. Theriogenology 33(6):1269-1278.
66. Kershaw-Young C., Druart X., Vaughan J., Maxwell W. 2012. β -Nerve growth factor is a major component of alpaca seminal plasma and induces ovulation in female alpacas. Reprod Fertil Dev, 24:1093–7.
67. Laguna V. 1986. Manual de crianza alpacas y llamas. Instituto Nacional de Fomento Lanero. La Paz Bolivia. p: 13-14.
68. Lariviere S., Ferguson SH. 2003. Evolution of induced ovulation in North American carnivores. Journal of mammalogy. 84:937-947.
69. León J., Smith B., Timm K., Le Crenn G. 1990. Endocrine changes during pregnancy, parturition and the early post-partum period in the llama (*Lama glama*). J. Reprod. Fétil. 88: 503-511.

70. Leyva V., García W. 1999. Efecto de la progesterona exógena y endógena en alpacas en celo sobre la ovulación, fertilización y gestación. En: Res. II Congreso Mundial sobre Camélidos, Cusco-Perú. p 89.
71. López A., Huanca W., Leyva V. 2006. Inducción de la ovulación en llamas mediante la administración intramuscular del plasma seminal de llama, alpaca y toro. Rev Inv Vet. 17 (2): 114-18.
72. Losno W., Coyutupa J. 1981. Niveles de testosterona sérica post coito en alpacas adultas. Resum Proyect Invest realizadas por la UNMSM. 1975 – 1979. Nº 2: 114. Lima.
73. Lozada P. 2006. Rol del Factor de crecimiento nervioso (NGF) en la regulación de la proliferación y angiogenesis del ovario. Memoria para optar el título de Bioquímico. Santiago. Univ. De Chile. p 42.
74. [MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. 2013. Resultados Definitivos IV Censo Nacional Agropecuario 2012. Lima. Peru. p 62.
75. Novoa C. 1970. Reproduction in the camelidae. J. Reprod. Fert. (review). 22: 3-20.
76. Novoa C., Fernández Baca S., Sumar J., Leyva V. 1972. Pubertad en la Alpaca. Rev Inv Vet. 1: 29 – 35.
77. Novoa C. 1991. Fisiología de la reproducción de la hembra. En: Fernández-Baca S. editor. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago de Chile. 428: 91-110.
78. Novoa C., Leyva V. 1996. Reproduction en alpacas y llamas. Publicación científica. IVITA 26 (30): 3 – 18.
79. Oliveira L., Zago D., Leiser R., Jones C., Bevilacqua E. 2003. Placentation in the alpaca (*Lama pacos*) Anat. Embryol. 207: 45–62.
80. O'Leary S., Jasper MJ., Robertson SA., Armstrong DT. 2006. Seminal plasma regulates ovarian progesterone production, leukocyte recruitment and follicular cell responses in the pig. Reproduction 132(1):147-158.
81. Organización de las Naciones Unidas para el desarrollo industrial, 2010. Estado de situación del sector textil camélidos en el Perú (Diagnostico nacional) Perú. ONUDI [Internet], [01 Mayo 2010]. Disponible en: <http://alpacadelperu.pe/diagnostico.pdf>
82. Pánez S., Huanca W., Huanca T., Ratto M., Adams G. 2009. Efecto del sitio de deposición del plasma seminal sobre la tasa de ovulación y formación del cuerpo lúteo en alpacas. Rev Inv Vet Perú. 20 (1): 21-27.
83. Palian J. 2010. Inducción de ovulación con plasma seminal o análogo de GnRH (acetato de Buselerina) y su efecto sobre la tasa de concepción en alpacas (*Vicugna pacos*),

- inseminadas con semen fresco. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nacional Mayor de San Marcos. p 66.
84. Pan G., Zhao X., Chen B., Jiang S., Huang Y., Zu Y., Wang H. 1992. The ovulation inducing effect of seminal plasma in the Bactrian camel. En: Proceedings of the First International Camel Conference. Dubai.
 85. Paolicchi F., Urquieta B., Del Valle L., Bustos O. 1999. Biological activity of the seminal plasma of alpacas, stimulus for the production of LH by pituitary cells. *Anim Reprod Sci.* 54: 203 – 210.
 86. Powell S., Smith B., Timmb K., Menino A. 2007. Estradiol production by pre implantation blastocysts and increased serum progesterone following estradiol treatment in llamas. *Animal Reproduction Science* 102: 66–75.
 87. Ratto M., Gatica R., Correa J. 1997. Timing of mating and ovarian response in llamas (*Lama glama*). *Animal Reproduction Science.* 48: 325-330.
 88. Ratto M., Huanca W., Singh J., Adams G. 2005. Local versus systemic effect of ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas. *Reprod Biol Endocrinol* 3:29.
 89. Ratto MH., Huanca W., Singh J., Adams GP. 2006. Comparison of the effect of ovulation-inducing factor (OIF) in the seminal plasma of llamas, alpacas, and bulls. *Theriogenology.* 66(5):1102-1106.
 90. Ratto M., Gomez C., Berland M., Adams G. 2007. Effect of ovarian super stimulation on COC collection and maturation in alpacas. *Animal Reproduction Science.* 97: 246-256.
 91. Ratto M., Delbaere L., Leduc Y., Pierson R., Adams G. 2012. Biochemical isolation and purification of ovulation-inducing factor (OIF) in seminal plasma of llamas. *Reprod Biol Endocrinol* 9:24.
 92. Reyna I. 2013. Efecto de cuatro diluciones de plasma seminal sobre la tasa de ovulación, tamaño del cuerpo lúteo y perfiles de progesterona en alpacas. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nacional Mayor de San Marcos.
 93. Richards JS., Russell DL., Ochsner S., Espey LL. 2002. Ovulation: new dimensions and new regulators of the inflammatory-like response. *Annu Rev Physiol.* 64:69-92.
 94. Ríos M. 1985. Presencia de un factor de inducción de la ovulación en el semen de alpaca y toro. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 30p.
 95. Salas C., Julio-Pieper M., Valladares M., Pommer R., Vega M., Mastronardi C., Kerr B., Ojeda SR., Lara HE., Romero C. 2006. Nerve growth factor-dependent activation of trkA receptors in the human ovary results in synthesis of FSH Receptors and estrogen secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 91(6):2396-403.

96. San-Martin M., Copaira M., Zuniga J., Rodriguez R., Bustinza G., Acosta L. 1968. Aspects of reproduction in the alpaca. *J Reprod Fertil* 16(3):395-399.
97. Sato A. y Montoya L. 1990. Aparato reproductor de la alpaca (*Lama pacos*), Anatomía macroscópica. *Rev. Camélidos Sudamericanos*. 7-13.
98. Senger PL. 2005. Pathways to pregnancy and parturition, 2nd rev. ed. Pullman, WA: Current Conceptions.
99. Silva ME., Smulders JP., Guerra M., Valderrama XP., Letelier C., Adams GP. 2011. Cetrorelix suppresses the pre ovulatory LH surge and ovulation induced by ovulation-inducing factor (OIF) present in llama seminal plasma. *Reprod Biol Endocrinol* 9:74.
100. Silva ME., Recabarren MP., Recabarren SE., Adams GP., Ratto MH. 2012. Ovarian estradiol modulates the stimulatory effect of ovulation-inducing factor (OIF) on pituitary LH secretion in llamas. *Theriogenology* 77: 1873–1882.
101. Singh J., Pierson RA., Adams GP. 1997. Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum: structural and functional correlates. *J Reprod Fertil* 109(1):35-44.
102. Skidmore J., Allen W., Heap R., 1994. Oestrogen synthesis by the peri-implantation conceptus of the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *J. Reprod. Fertil.* 101: 363-367.
103. Skidmore JA., Wooding, FB., Allen W. 1996. Placentation during the first 60 days of gestation in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). In: *Proceedings of the International Conference on Camelids: Science and Productivity*, vol. 4: 199-202.
104. Smith TM. 1985. Reproduction in South American Camelids. *Iowa State Univ. Vet.* 47: 110-115.
105. Smith CL., Meter AT., Pugh DG. 1994. Reproduction in llamas and alpacas: A review. *Theriogenology*. 41: 573-592.
106. Smith BB., Timm KI., Reed PJ., Christensen M. 2000. Use of cloprostenol as an abortifacient in the llama (*Lama glama*). *Theriogenology*. 41: 573-592.
107. Stevens D., Burton G., Sumar J., Nathanielsz P., 1980. Ultrastructural observations on the placenta of the alpaca, *Lama pacos*. *Placenta*. 1: 21-32.
108. Sumar J., Leyva V. 1981. Colección de semen mediante vagina artificial en alpacas (*Lama pacos*). En: *Res. IV Convención Internacional sobre Camélidos Sudamericanos*. Chile-Punta Arenas. p 7.
109. Sumar J. 1983. Studies on reproductive pathology in alpacas. MS Thesis, Department of Obstetrics and Gynaecology, College of Veterinary Medicine, Swedish University of Agriculture and Science, Uppsala. pp: 9-1003.

110. Sumar, J. 1985. Reproductive physiology in South American camelids. En: Genetics of Reproduction in Sheep. Edit by Land, R; Robinson, S. London: Butterworths. p 81 – 95.
111. Sumar J., García M., 1986. Fisiología de la reproducción de la alpaca. In: Nuclear and Related Techniques in Animal Production and Health, IAEA, Viena. pp: 149-177.
112. Sumar J. 1988. Removal of the ovaries or ablation of the corpus luteum and its effect on the maintenance of gestation in the alpaca and llama. Acta Vet. Scand. Suplemento 83: 133.
113. Sumar J., Bravo PW. 1991. In situ observation of the ovarian of llamas and alpacas by use of a laparoscopic technique. J. Anim. Vet. Med. Assoc. 199, 1159-1163.
114. Sumar J., Bravo PW., Foote WC. 1993. Sexual receptivity and time of ovulation in alpacas. Small Ruminant Research. 11, 143-150.
115. Sumar J. 1994. Effects of various ovulation induction stimuli in alpacas and llamas. J. Arid Environ. 26: 39-45.
116. Sumar J. 1996. Reproduction in llamas and alpacas. Animal Reproduction Science 42: 405-415.
117. Sumar J. 1997a. Avances y perspectivas en reproducción de camélidos. Fisiología en la hembra. Memorias I Simposium Internacional: Avances en Reproducción de Rumiantes. Lima-Perú. pp: 30-36.
118. Sumar J. 2000. Llamas and alpacas. In: Reproduction in farm Animals. Seventh Edition. E.S.E. Hafez, B. Hafez.
119. Sumar J. 2007. Realidades y mitos sobre los Camélidos Sudamericanos. En: XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA-Cusco-Perú: Asociación Latinoamericana de Producción Animal - Asociación Peruana de Producción Animal. pp: 211 – 214.
120. Tanco M., Ratto M., Lazzarotto M., Adams G. 2011. Dose-Response of Female Llamas to Ovulation-Inducing Factor from Seminal Plasma. Biol Reproduct 85: 452–456.
121. Tesarollo L. 1998. Pleiotropic functions of neurotrophins in development. Cytokine and Growth Factor Reviews 9(2):125-138.
122. Tibary A. y Anouassi A. 1997. Theriogenology in camelidae. Abu Dhabi Printing, Mina, Abu Dhavi, UAE.
123. Tibary A. y Memon MA. 1999. Reproductive physiology in the female South American camelidae. 6, 217-233.
124. Tibary A. 2001. Fertilization, embryo and fetal development in camelids. In: Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology, Vancouver, BC, Canada, 12-15 September. pp: 387-396.

125. Tibary A., Vaughan J. 2006. Reproductive physiology and infertility in male South American Camelids: A review and clinical observations. *Small Ruminant Research* 61: 283 – 298.
126. Tribulo P., Bogle O., Adams G. 2012. Bovine seminal plasma induces ovulation in llamas. *Reproduction, Fertility and Development*. 24(1): 176-177.
127. Ulloa-Leal C., Bogle O., Adams G., Ratto M., 2014. Luteotrophic effect of ovulation-inducing factor/nerve growth factor present in the seminal plasma of llamas. *Theriogenology*. 81: 1101–1107.
128. Vaughan JL. 2001a. Control of follicular waves in alpacas. *Rev. Inv. Vet. Perú. Suplem. Lima-Perú*. 1, 112 – 114.
129. Vaughan JL. 2001b. Control of ovarian follicular growth in the alpaca (*Lama pacos*). Tesis de Doctorado. Central Queensland University.
130. Vaughan JL., Macmillan KL., Anderson GA., D'Occhio MJ. 2003. Effects of mating behavior and the ovarian follicular state of female alpacas on conception. *Aust. Vet. J.* 81: 86-90.
131. Vaughan J., Macmillan KL., D'Occhio MJ. 2004. Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. *Anim Reprod Sci* 80:353-361.
132. Velásquez F., Málaga J., Bravo W. 1999. Citología ex foliativa del útero de la alpaca. En: II Congreso Mundial sobre Camélidos. Cusco, Perú.
133. Wheeler JC. 1995. Evolution and present situation of the South American Camelidae. *Biol J Linn Soc* 54:271-295.

VI. APENDICE

APENDICE 1.- GRUPO DE ANIMALES TRATADOS CON PLASMA SEMINAL

HEMBRA	RAZA	TAMAÑO DEL FOLICULO DOMINANTE	MACHO	TIEMPO DE COPULA	OBSERVACION ECOGRAFICA AL DIA 25 POST COPULA	OBSERVACION ECOGRAFICA AL DIA 62 POST COPULA	OBSERVACIONES
1	HY	8 mm	1	12 min	PREÑADA	SALIO DEL EXP	REPITIO SERVICIO
2	HY	9 mm	2	06 min	PREÑADA	PREÑADA	
3	SU	8 mm	3	16 min	VACIA	VACIA	
4	HY	8 mm	4	10 min	PREÑADA	PREÑADA	
5	HY	9 mm	5	07 min	PREÑADA	SALIO DEL EXP	REPITIO SERVICIO
6	HY	9 mm	6	05 min	PREÑADA	SALIO DEL EXP	REPITIO SERVICIO
7	HY	8 mm	7	11 min	PREÑADA	PREÑADA	
8	HY	9 mm	8	19 min	PREÑADA	PREÑADA	
9	HY	10 mm	9	22 min	PREÑADA	PREÑADA	
10	HY	8 mm	10	19 min	PREÑADA	VACIA	
11	HY	9 mm	11	38 min	PREÑADA	PREÑADA	
12	SU	10 mm	12	17 min	VACIA	VACIA	
13	HY	10 mm	13	16 min	PREÑADA	PREÑADA	
14	HY	8 mm	14	20 min	PREÑADA	PREÑADA	
15	SU	8 mm	15	16 min	PREÑADA	VACIA	
16	HY	12 mm	16	14 min	PREÑADA	PREÑADA	
17	HY	10 mm	17	20 min	PREÑADA	PREÑADA	
18	HY	8 mm	18	25 min	PREÑADA	PREÑADA	
19	HY	8 mm	19	10 min	PREÑADA	PREÑADA	
20	HY	7 mm	20	10 min	VACIA	VACIA	
21	HY	8 mm	21	21 min	PREÑADA	PREÑADA	
22	HY	7 mm	22	29 min	PREÑADA	SALIO DL EXP	REPITIO SERVICIO
23	HY	8 mm	23	24 min	VACIA	VACIA	
24	SU	8 mm	24	30 min	PREÑADA	PREÑADA	
25	HY	8 mm	25	29 min	PREÑADA	PREÑADA	
26	HY	8 mm	26	24 min	PREÑADA	PREÑADA	
27	HY	8 mm	27	20 min	PREÑADA	PREÑADA	
28	HY	8 mm	28	14 min	PREÑADA	SALIO DEL EXP	REPITIO SERVICIO
29	SU	9 mm	29	24 min	VACIA	VACIA	
30	HY	8 mm	30	20 min	PREÑADA	PREÑADA	
31	HY	7 mm	31	18 min	PREÑADA	PREÑADA	
32	HY	7 mm	32	26 min	PREÑADA	PREÑADA	
33	HY	9 mm	33	16 min	VACIA	VACIA	
34	HY	9 mm	34	21 min	PREÑADA	PREÑADA	
35	HY	8 mm	35	23 min	VACIA	VACIA	
36	HY	9 mm	36	21 min	VACIA	VACIA	
37	HY	7 mm	37	20 min	PREÑADA	PREÑADA	
38	HY	8 mm	38	16 min	PREÑADA	PREÑADA	
39	HY	7 mm	39	25 min	PREÑADA	PREÑADA	
40	HY	8 mm	40	17 min	PREÑADA	PREÑADA	

APENDICE 2.- GRUPO DE ANIMALES TRATADOS CON GnRH

HEMBRA	RAZA	TAMAÑO DEL FOLICULO DOMINANTE	MACHO	TIEMPO DE COPULA	OBSERVACION ECOGRAFICA AL DIA 25 POST COPULA	OBSERVACION ECOGRAFICA AL DIA 62 POST COPULA	OBSERVACIONES
1	HY	8 mm	1	28 min	PREÑADA	VACIA	
2	HY	9 mm	2	25 min	VACIA	VACIA	
3	SU	10 mm	3	16 min	MURIO	MURIO	MURIO
4	HY	7 mm	4	06 min	VACIA	VACIA	
5	HY	8 mm	5	17 min	PREÑADA	PREÑADA	
6	SU	8 mm	6	22 min	PREÑADA	PREÑADA	
7	HY	11 mm	7	17 min	PREÑADA	PREÑADA	
8	HY	7 mm	8	19 min	PREÑADA	PREÑADA	
9	SU	9 mm	9	21 min	PREÑADA	PREÑADA	
10	HY	8 mm	10	19 min	PREÑADA	PREÑADA	
11	HY	10 mm	11	35 min	PREÑADA	PREÑADA	
12	HY	8 mm	12	21 min	PREÑADA	PREÑADA	
13	HY	7 mm	13	18 min	PREÑADA	SALIO DEL EXP	REPITIO SERVICIO
14	HY	8 mm	14	27 min	PREÑADA	PREÑADA	
15	HY	9 mm	15	16 min	PREÑADA	PREÑADA	
16	SU	7 mm	16	14 min	VACIA	VACIA	
17	HY	8 mm	17	14 min	VACIA	VACIA	
18	HY	8 mm	18	21 min	VACIA	VACIA	
19	HY	8 mm	19	25 min	VACIA	VACIA	
20	SU	7 mm	20	25 min	PREÑADA	PREÑADA	
21	HY	10 mm	21	20 min	VACIA	VACIA	
22	HY	8 mm	22	15 min	VACIA	VACIA	
23	HY	8 mm	23	11 min	PREÑADA	PREÑADA	
24	HY	8 mm	24	24 min	VACIA	VACIA	
25	HY	7 mm	25	26 min	PREÑADA	VACIA	
26	HY	8 mm	26	18 min	PREÑADA	PREÑADA	
27	HY	8 mm	27	22 min	PREÑADA	VACIA	
28	SU	8 mm	28	32 min	PREÑADA	PREÑADA	
29	HY	8 mm	29	31 min	VACIA	VACIA	
30	HY	9 mm	30	20 min	VACIA	VACIA	
31	HY	7 mm	31	18 min	VACIA	VACIA	
32	HY	8 mm	32	17 min	VACIA	VACIA	
33	HY	10 mm	33	22 min	VACIA	VACIA	
34	HY	7 mm	34	19 min	VACIA	VACIA	
35	HY	8 mm	35	20 min	PREÑADA	PREÑADA	
36	HY	8 mm	36	24 min	PREÑADA	PREÑADA	
37	HY	11 min	37	14 min	PREÑADA	VACIA	
38	HY	8 mm	38	12 min	PREÑADA	SALIO DEL EXP	REPITIO SERVICIO
39	HY	--	39	--	PREÑADA	SALIO DEL EXP	SIN DATOS DE LA COPULA

APENDICE 3.- GRUPO DE ANIMALES SIN TRATAMIENTO ALGUNO

HEMBRA	RAZA	TAMAÑO DEL FOLICULO DOMINANTE	MACHO	TIEMPO DE COPULA	OBSERVACION ECOGRAFICA AL DIA 25 POST COPULA	OBSERVACION ECOGRAFICA AL DIA 62 POST COPULA	OBSERVACIONES
1	HY	7 mm	1	24 min	PREÑADA	VACIA	
2	HY	8 mm	2	11 min	PREÑADA	PREÑADA	
3	HY	8 mm	3	9 min	VACIA	VACIA	
4	HY	9 mm	4	6 min	PREÑADA	SALIO DEL EXP.	REPITIO SERVICIO
5	HY	8 mm	5	22 min	VACIA	VACIA	
6	HY	8 mm	6	32 min	PREÑADA	PREÑADA	
7	HY	7 mm	7	11 min	VACIA	VACIA	
8	HY	7 mm	8	19 min	PREÑADA	PREÑADA	
9	HY	9 mm	9	27 min	PREÑADA	PREÑADA	
10	HY	8 mm	10	16 min	VACIA	VACIA	
11	HY	8 mm	11	5 min	PREÑADA	PREÑADA	
12	HY	11 mm	12	18 min	PREÑADA	PREÑADA	
13	HY	9 mm	13	21 min	PREÑADA	PREÑADA	
14	HY	9 mm	14	7 min	VACIA	VACIA	
15	SU	8 mm	15	18 min	PREÑADA	PREÑADA	
16	HY	8 mm	16	25 min	PREÑADA	PREÑADA	
17	HY	8 mm	17	18 min	PREÑADA	PREÑADA	
18	HY	8 mm	18	26 min	PREÑADA	VACIA	
19	HY	8 mm	19	29 min	VACIA	VACIA	
20	SU	11 mm	20	15 min	VACIA	VACIA	
21	HY	8 mm	21	13 min	PREÑADA	VACIA	
22	HY	8 mm	22	14 min	VACIA	VACIA	
23	HY	8 mm	23	15 min	VACIA	VACIA	
24	SU	7 mm	24	23 min	PREÑADA	SALIO DEL EXP	REPITIO SERVICIO
25	HY	8 mm	25	23 min	PREÑADA	SALIO DEL EXP	REPITIO SERVICIO
26	HY	7 mm	26	20 min	VACIA	VACIA	
27	HY	9 mm	27	26 min	PREÑADA	PREÑADA	
28	HY	8 mm	28	23 min	PREÑADA	PREÑADA	
29	HY	8 mm	29	27 min	PREÑADA	PREÑADA	
30	HY	7 mm	30	14 min	VACIA	VACIA	
31	HY	7 mm	31	22 min	VACIA	VACIA	
32	HY	9 mm	32	21min	VACIA	VACIA	
33	SU	7 mm	33	13 min	PREÑADA	PREÑADA	
34	SU	9 mm	34	15 min	PREÑADA	PREÑADA	
35	HY	7 mm	35	22 min	VACIA	VACIA	
36	HY	7 mm	36	18 min	PREÑADA	PREÑADA	
37	SU	7 mm	37	14 min	PREÑADA	PREÑADA	
38	HY	9 mm	38	20 min	PREÑADA	PREÑADA	